

**PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN VARIETAS BUAH NAGA (*Hylocereus*
spp.) TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI CUKA BUAH NAGA**

SKRIPSI

Oleh :

CAHYA WIDYA ARYANTI

NIM. 115100500111005



PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI PANGAN & AGROINDUSTRI

JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN VARIETAS BUAH NAGA (*Hylocereus spp.*) TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI CUKA BUAH NAGA

Oleh :

CAHYA WIDYA ARYANTI

NIM. 115100500111005

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh

Gelar Sarjana Teknologi Pertanian



PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI PANGAN & AGROINDUSTRI

JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Skripsi : Pengaruh Lama Fermentasi dan Varietas Buah Naga
(*Hylocereus spp.*) terhadap Aktivitas Antibakteri Cuka
Buah Naga

Nama Mahasiswa : Cahya Widya Aryanti

NIM : 115100500111005

Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Teknologi Pertanian

Pembimbing Pertama,


Dr. Ir. Elok Zubaidah, MP
NIP. 19590821 199303 2001

Pembimbing Kedua,


Endang Widyastuti, S.Pt, M.Sc, MP
NIP. 19850925 201212 022

Tanggal persetujuan :

Tanggal Persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Skripsi : Pengaruh Lama Fermentasi dan Varietas Buah Naga
(*Hylocereus spp.*) terhadap Aktivitas Antibakteri Cuka
Buah Naga
Nama Mahasiswa : Cahya Widya Aryanti
NIM : 115100500111005
Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas : Teknologi Pertanian

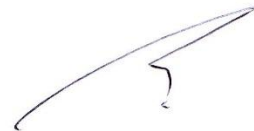
Dosen Penguji I,



Prof. Dr. Ir. Simon Bambang Widjanarko, M.App.Sc

NIP. 19521003 197903 1 002

Dosen Penguji II,



Dr. Ir. Elok Zubaidah, MP

NIP. 19590821 199303 2 001

Dosen Penguji III,



Endrika Widyastuti, S.Pt, M.Sc, MP

NIP. 19850925 201212 022

Ketua Jurusan,



Dr. Ted Estiasih, STP., MP.

NIP. 19561226 200212 2 001

Tanggal Lulus Skripsi :

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Palngkaraya 10 Agustus 1993 dari ayah bernama Soeparno dan ibu maryam. Penulis menyelesaikan pendidikan di sekolah dasar di SD Patranrejo pada tahun 2005, kemudian melanjutkan pendidikan di SMPN 3 Nganjuk pada tahun 2008, dan menyelesaikan pendidikan menengah atas di SMAN 1 Nganjuk pada tahun 2011.



Tahun 2011 penulis melanjutkan pendidikan S-1 di Universitas Brawijaya Malang dan pada Tahun 2016 telah berhasil menyelesaikannya di jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang. Pada masa pendidikannya penulis menjadi asisten laboratorium Teknologi Pengolahan Pangan (TPP) dan Teknologi Pengolahan Pangan dan Hasil Pertanian (TPPHP).

Alhamdulillah

Syukur tiada tara kepada Allah SWT

Karya kecil ini kupersembahkan untuk

kedua orang tua tercinta dan keluarga sederhana yang mewarnai kehidupanku



And last but not least

" Life isn't about finding yourself. Life is about creating yourself."

(Goerge Bernard Shaw)

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama Mahasiswa : Cahya Widya Aryanti
NIM : 115100500111005
Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas : Teknologi Pertanian
Judul Skripsi : Pengaruh Lama Fermentasi dan Varietas Buah Naga
(*Hylocereus spp.*) terhadap Aktivitas Antibakteri Cuka
Buah Naga

Menyatakan bahwa,

Skripsi dengan judul di atas merupakan karya asli penulis tersebut di atas.
Apabila di kemudian hari terbukti pernyataan ini tidak benar saya bersedia
dituntut sesuai hukum yang berlaku.

Malang, 23 Desember 2015

Pembuat Pernyataan,

Cahya Widya Aryanti
NIM. 115100500111005

Cahya Widya Aryanti. 115100500111005. Pengaruh Lama Fermentasi Dan Varietas Buah Naga (*Hylocereus spp.*) Terhadap Aktivitas Antibakteri Cuka Buah Naga. TA. Pembimbing : Dr.Ir. Elok Zubaidah, MP dan Endrika Widyastuti, S.Pt, M.Sc, MP

RINGKASAN

Buah naga atau *Dragon fruit* (*Hylocereus spp.*) adalah buah berdaging segar dari kaktus merambat yang berasal dari benua Amerika. Varietas buah naga yang sering dijumpai adalah buah naga daging putih dan buah naga daging merah. Buah naga memiliki banyak manfaat yang baik bagi kesehatan, namun buah tidak dapat bertahan lama pada suhu ruang. Oleh sebab itu diperlukan suatu proses untuk mengolah buah naga segar menjadi produk makanan atau minuman. Di Indonesia penelitian mengenai pembuatan cuka dari buah naga masih belum banyak dilakukan maupun dipublikasikan. Cuka memiliki rasa yang sangat masam karena mengandung asam asetat yang tinggi. Kandungan asam asetat yang tinggi tersebut membuat cuka sebagai salah satu agen antibakteri alami.

Dalam pembuatan cuka lama fermentasi merupakan salah satu faktor yang penting dalam proses fermentasi cuka karena berpengaruh terhadap kualitas produk fermentasi yang dihasilkan. Selain lama fermentasi, varietas buah naga juga diduga berpengaruh terhadap karakteristik cuka yang dihasilkan.

Penelitian ini menggunakan metode penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor. Faktor I varietas buah naga dengan 2 level (buah naga daging merah dan daging putih) dan faktor II adalah lama fermentasi dengan 4 level (7 hari, 14 hari, 21 hari, dan 28 hari) sehingga diperoleh 8 kombinasi perlakuan dan dilakukan sebanyak 3 kali, maka didapatkan 24 satuan percobaan.

Data hasil pengamatan dianalisa dengan menggunakan ANOVA. Apabila dari hasil uji menunjukkan adanya beda nyata, maka dilakukan uji lanjut dengan BNT (Beda Nyata Terkecil) 5%. Pemilihan perlakuan terbaik menggunakan metode "Multiple Attribute".

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan varietas buah naga (buah naga daging putih dan buah naga daging merah) dan lama fermentasi (7, 14, 21, dan 28 hari) berpengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap semua parameter kimia cuka buah naga, sedangkan interaksi keduanya menunjukkan perbedaan yang nyata pada semua parameter kecuali parameter total gula. Kombinasi perlakuan terbaik yang didapatkan adalah produk dengan perlakuan buah naga merah dengan lama fermentasi 28 hari. Adapun nilai parameter kimia perlakuan terbaik tersebut adalah pH 2,98; total asam 3,08%; total padatan terlarut (TPT) 1,80°Brix; total gula 0,22%; total fenol 198,80 µg/ml; aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* 16,30 mm; aktivitas Antibakteri *Escherichia coli* 15,43mm dan kadar alkohol 0%.

Kata Kunci : Antibakteri, Cuka Buah Naga, Lama Fermentasi dan Varietas Buah Naga (*Hylocereus spp.*)

Cahaya Widya Aryanti. 115100500111005. Pengaruh Lama Fermentasi Dan Varietas Buah Naga (*Hylocereus spp.*) Terhadap Aktivitas Antibakteri Cuka Buah Naga. TA. Pembimbing : Dr.Ir. Elok Zubaidah, MP dan Endrika Widyastuti, S.Pt, M.Sc, MP

SUMMARY

Dragon fruit (*Hylocereus spp.*) is a fleshy fruit of the vine cactus originating from the American continent. Species of dragon fruit that is frequently known are dragon fruit with white flesh and dragon fruit with red flesh. The dragon fruit has many benefits for health, but the fruit can not last long at room temperature. Therefore, we need a process for treating fresh dragon fruit into a food or beverage product. In Indonesia research about vinegar from dragon fruit still has not been done or published yet. Vinegar has a very sour taste because it contains high acetic acid. High acetic acid in vinegar, make vinegar as a natural antibacterial agent.

In the vinegar making, fermentation time is one factor that is important in the fermentation process, because it affects the quality of the final fermentation products. In addition Varieties of dragon fruit are also thought to influence the characteristics of the resulting vinegar

This study uses research methods completely randomized design (CRD) with 2 factors. The first factor is varieties of dragon fruit with 2 levels (dragon fruit red flesh and white flesh) and the second factor is the length of fermentation with 4 levels (7 days, 14 days, 21 days, and 28 days). There were 8 treatment combination, and each combination repeated 3 times, thus we get 24 treatments.

The data were analyzed using ANOVA. If the test results indicate a significant difference, then tested further by LSD (Least Significant Difference) 5%. Selection of the best treatments using the "Multiple attributes".

The results showed that treatment of varieties of dragon fruit (dragon fruit white meat and red meat) and length of fermentation (7,14,21, and 28 days) has significantly effect ($\alpha = 0.05$) for all chemical parameters of dragon fruit vinegar, while the interaction both factors, showed significant differences in all parameters except the parameters of total sugars. The best treatment chemical parameter values are pH 2,98; total acidity 3,08%; total soluble solid (TSS) 1,80°Brix; total sugar 0,22%; total phenol 198,80 $\mu\text{g/ml}$; antibacterial activity of *Staphylococcus aureus* 16,30 mm; antibacterial activity of *Escherichia coli* 15,43 mm and alcohol levels 0%.

Kata Kunci : Antibakteri, Cuka Buah Naga, Lama Fermentasi dan Varietas Buah Naga (*Hylocereus spp.*)

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan anugerah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Pengaruh Lama Fermentasi dan Varietas Buah Naga (*Hylocereus spp.*) terhadap Aktivitas Antibakteri Cuka Buah Naga”. Tugas akhir ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian.

Dalam penyelesaian tugas akhir ini, penulis banyak mendapatkan bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih setulusnya kepada :

1. Ayah dan ibunda tercinta, Soeparno dan Mariyam. Adikku tersayang Cisilia Putrianti, yang telah memberikan kasih sayang, perhatian, dan memberi kesempatan pada penulis untuk berjuang menuntut ilmu sehingga dapat menyelesaikan studi di perguruan tinggi ini.
2. Ibu Dr. Teti Estiasih, STP., MP selaku ketua jurusan Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.
3. Dr.Ir. Elok Zubaidah, MP selaku dosen pembimbing pertama, yang telah banyak membantu penulis dalam memberikan bimbingan, arahan, masukan serta inspirasi dalam penulisan maupun kegiatan penelitian.
4. Endrika Widyastuti, S.Pt, M.Sc, MP selaku dosen pembimbing kedua, yang telah banyak memberikan masukan, kritik dan saran sehingga dapat menyempurnakan penulisan hasil penelitian ini.
5. Bapak Prof.Dr.Ir. Simon Bambang Widjanarko, M.App.Sc., selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran sehingga dapat menyempurnakan laporan hasil penelitian ini.
6. Seluruh keluarga besarku yang memberikan dorongan semangat kepada penulis selama mengikuti perkuliahan hingga selesai skripsi ini.
7. Nela, Austine, Arni, Austriena dan Felix, teman seperjuanganku dalam melaksanakan penelitianku , karena telah memberi motivasi , ide dan saran yang sangat membantu hingga akhir
8. Nadzira, Rischa, Ana Bunda, Nisa, Nia dan semua teman-temanku di Lab Mikpang. Terimakasih atas dukungan kalian selama ini, yang tak akan terlupakan

9. My Best Friend from K.C.B., Chyintia, Nia, Fariz, dan Afin yang telah memberiku warna, tawa, dan petualangan dalam perjalannanku
10. Semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya tugas akhir ini

Akhirnya Penulis menyadari bahwa penulisan tugas akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan untuk memperbaiki tugas akhir ini. Akhir kata, penulis berharap semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat kepada semua pihak.

Malang, Januari 2016

Penulis

DAFTAR ISI

RINGKASAN	iv
SUMMARY	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3 Manfaat Penelitian.....	2
1.4 Rumusan Masalah	3
1.5 Hipotesis	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Buah naga	4
2.2 Cuka	8
2.3 Fermentasi Cuka	9
2.4 Mikroorganisme yang Berperan dalam Fermentasi Cuka	16
2.5 Bahan Tambahan yang Digunakan	19
2.6 Antibakteri	20
2.7 Cuka sebagai Antibakteri.....	24
III. METODE PENELITIAN	26
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	26
3.2 Alat dan Bahan.....	26
3.3 Metode Penelitian.....	27
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	36
4.1 Sari Buah Naga Pasteurisasi	36
4.2 Sari Buah Naga Fermentasi Alkohol	39
4.3 Cuka Buah Naga	49
4.4 Aktivitas Antibakteri Cuka Buah Naga	63
4.5 Perlakuan Terbaik Cuka Buah Naga	69
V. KESIMPULAN DAN SARAN	71
5.1 Kesimpulan	71
5.2 Saran	71
DAFTAR PUSTAKA	72
LAMPIRAN	83

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
2.1	Komposisi gizi per 100 gram daging buah naga.....	6
4.1	Rerata Hasil Analisa Kimia Sari Buah Naga	36
4.2	Rerata Kadar Alkohol Akibat Pengaruh Varietas Buah Naga pada Sari Buah Naga Beralkohol	40
4.3	Rerata Total Gula Setelah Fermentasi Alkohol pada Dua Varietas Buah Naga yang Berbeda	41
4.4	Rerata Nilai TPT Setelah Fermentasi Alkohol pada Dua Varietas Buah Naga yang Berbeda	43
4.5	Rerata Nilai Total Asam Setelah Fermentasi Alkohol pada Dua Varietas Buah Naga yang Berbeda	45
4.6	Rerata Nilai pH Setelah Fermentasi Alkohol pada Dua Varietas Buah Naga yang Berbeda	46
4.7	Rerata Total Fenol Setelah Fermentasi Alkohol pada Dua Varietas Buah Naga yang Berbeda	48
4.8	Rerata Total Asam Asetat Akibat Pengaruh Varietas Buah Naga dan Lama Fermentasi Asam Asetat pada Cuka Daging Buah Naga.....	50
4.9	Rerata Nilai pH Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga Dan Lama Fermentasi	53
4.10	Rerata Total Gula Akibat Pengaruh Varietas Buah Naga pada Cuka Daging Buah Naga	55
4.11	Rerata Total Gula Akibat Pengaruh Lama Fermentasi pada Cuka Daging Buah Naga	56
4.12	Rerata Nilai TPT Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga Dan Lama Fermentasi	58
4.13	Rerata Nilai Total Fenol Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga Dan Lama Fermentasi	61
4.14	Rerata Nilai Kadar Alkohol Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga Dan Lama Fermentasi	63

4.15	Rerata Aktifitas Antibakteri (Diukur berdasarkan Zona Bening) <i>Staphylococcus aureus</i> Akibat Interaksi Varietas Buah naga dan Lama Fermentasi.....	65
4.16	Rerata Aktifitas Antibakteri (Diukur berdasarkan Zona Bening) <i>Escherichia coli</i> Akibat Interaksi Varietas Buah naga dan Lama Fermentasi	68
4.17	Karakteristik Cuka Buah Naga Perlakuan Terbaik.....	70

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
2.1	Buah naga (<i>Hylocereus sp</i>) dengan warna daging yang berbeda	5
2.2	Proses Fermentasi Alkohol.....	11
2.3	Diagram Oksidasi Alkohol menjadi Asam Asetat	14
2.4	<i>Acetobacter pasteurianus</i> (Smooth type) NBCR 3283 yang telah diisolasi.....	17
2.5	Ragi komersial Fermipan.....	18
3.1	Diagram Alir Pembuatan Ragi Teraktivasi	32
3.2	Diagram Alir Pembuatan Inokulum <i>Acetobacter pasteurianus</i>	33
3.3	Diagram Alir Pembuatan Cuka Buah Naga.....	34
3.4	Diagram Alir Pengujian Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri Indikator.....	35
4.1	Grafik Rerata Kadar Alkohol pada Sari Buah Naga Beralkohol	39
4.2	Grafik Total Gula pada Sari Buah Naga Beralkohol.....	41
4.3	Grafik Total Padatan Terlarut (TPT) pada Sari Buah Naga Beralkohol	43
4.4	Grafik Total Asam pada Sari Buah Naga Beralkohol	44
4.5	Grafik Ph pada Sari Buah Naga Beralkohol.....	46
4.6	Grafik Total Fenol pada Sari Buah Naga Beralkohol	48
4.7	Grafik Rerata Nilai Total Asam Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga dan Lama Fermentasi	50
4.8	Grafik Rerata Nilai Ph Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga dan Lama Fermentasi	52
4.9	Grafik Korelasi antara Total Asam dan pH pada Cuka Buah Naga.....	54
4.10	Grafik Rerata Total Gula Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga dan Lama Fermentasi	55
4.11	Grafik Rerata Total Padatan Terlarut (TPT) Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga dan Lama Fermentasi	57
4.12	Grafik korelasi antara Total Padatan Terlarut (TPT) dan Total Gula Pada cuka Buah Naga	59

4.13	Grafik Rerata Total Fenol Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga dan Lama Fermentasi.....	60
4.14	Grafik Rerata Kadar Alkohol Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga dan Lama Fermentasi.....	62
4.15	Grafik Perubahan Nilai Aktifitas Antibakteri Cuka Buah Naga Daging Merah Dan Putih Selama Proses Fermentasi Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	64
4.16	Grafik Perubahan Nilai Aktifitas Antibakteri Cuka Buah Naga Daging Merah Dan Putih Selama Proses Fermentasi Terhadap <i>Escherichia coli</i>	67

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Prosedur Analisa	83
2.	Data Sari Buah Naga	88
3.	Data dan Analisa Sari Alkohol Buah Naga	80
4.	Data dan Analisa pH Cuka Buah Naga	93
5.	Data dan Analisa Total Asam Cuka	95
6.	Data dan Analisa Total Gula Cuka.....	97
7.	Data dan Analisa TPT Cuka Buah Naga.....	99
8.	Data dan Analisa Total Fenol Cuka Buah Naga.....	101
9.	Data dan Analisa Kadar Alkohol Akhir Cuka Buah Naga	103
10.	Data dan Analisa Antibakteri <i>Escherichia coli</i> Cuka Buah Naga	105
11.	Data dan Analisa Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Cuka Buah Naga	107
12.	Analisa Perlakuan Terbaik	109
13.	Dokumentasi	112

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Buah naga atau *Dragon fruit* (*Hylocereus spp.*) adalah buah berdaging segar dari kaktus merambat yang berasal dari benua Amerika. Di Indonesia, buah ini relatif baru tetapi sudah banyak ditanam di Indonesia. Tiga spesies buah naga yang umum terdapat di Indonesia adalah yaitu buah naga kulit merah daging putih (*Hylocereus undatus*), buah naga kulit merah daging super merah (*Hylocereus costaricensis*), buah naga kulit merah daging merah (*Hylocereus polhyrizus*) (Jaya, 2010).

Buah Naga memiliki banyak manfaat yang baik bagi kesehatan. Menurut Umayah dan Amrun (2007), Buah Naga dapat menurunkan kadar kolesterol, menyeimbangkan kadar gula darah, mencegah kanker usus, mencegah penyakit diabetes mellitus dan penyakit kardiovaskuler. Namun buah naga segar hanya dapat bertahan selama 14 hari pada suhu 10 °C dan 5 hari pada suhu ruang (Minh, 2014). Oleh sebab itu diperlukan suatu proses untuk mengolah buah naga segar menjadi produk makanan atau minuman.

Penelitian mengenai pengolahan buah naga menjadi produk makanan atau minuman telah banyak dilakukan diluar maupun dalam negeri. Beberapa produk olahan buah naga adalah dodol, sirup, dan kripik buah naga super merah (Wahyuni, 2012), Susu, *soft drink*, *ice cream*, jelly, dan *marmalades* yang terbuat dari campuran buah naga (Luders and McMahon, 2006) dan *wine* dari buah naga (Minh, 2014). Selain itu di luar negeri pengolahan buah naga menjadi minuman fermentasi banyak diminati karena diduga dapat meningkatkan fungsi tubuh keseluruhan (Chew, 2009). Namun penelitian mengenai pembuatan cuka dari buah naga masih belum banyak dilakukan maupun dipublikasikan.

Cuka (*Vinegar*) merupakan salah satu minuman fermentasi. Cuka dihasilkan oleh bahan yang mengandung pati dan gula melalui 2 tahap, tahap pertama merupakan fermentasi alkohol oleh yeast dan tahap kedua adalah fermentasi asam asetat oleh bakteri asam asetat (Ogontoyinbo, *et al*, 2011). Bakteri asam asetat yang digunakan dalam pembuatan cuka merupakan anggota dari genus *Acetobacter* yang memiliki kemampuan untuk mengubah etil alkohol (C_2H_5OH) menjadi asam asetat (CH_3CO_2H) melalui oksidasi (Patil, 2013). Cuka

kebanyakan dibuat dari beras, *malt*, apel, *wine*, dan berbagai produk hasil pertanian (Raji , *et al.* 2012).

Cuka yang terbuat dari buah telah banyak dikembangkan, hal tersebut dikarenakan buah merupakan substrat yang tepat untuk pembuatan cuka karena mengandung kadar gula yang tinggi dan ketersediannya yang melimpah. Selain itu buah kaya akan vitamin dan mineral, sehingga cuka yang terbuat dari buah secara tidak langsung juga kaya akan vitamin dan mineral (Patil, 2013). Cuka buah telah banyak dimanfaatkan sebagai pangan fungsional karena memiliki manfaatnya baik bagi kesehatan. Menurut Zubaidah (2011), pemberian cuka salak dan apel dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diberi diet tinggi gula sampai mendekati batas normal dan berdasarkan penelitian Sitepu (2011), cuka strawberry dengan proporsi buah : air (1:1) dan konsentrasi sukrosa 12,5% aktivitas antibakterinya menghasilkan zona bening sebesar 12,00 mm.

Cuka memiliki rasa yang sangat masam karena mengandung asam asetat yang tinggi. Kandungan asam asetat yang tinggi tersebut membuat cuka sebagai salah satu agen antibakteri alami. Menurut Raftari *et al.* (2009), penggunaan asam asetat sebanyak 2% dapat menurunkan *Eschericia coli* sebanyak 1,3 log cfu/gr dan semakin tinggi konsentrasi asam organik yang digunakan maka penurunan jumlah *Echericia coli* juga semakin tinggi.

Dalam pembuatan cuka lama fermentasi merupakan salah satu faktor yang penting dalam proses fermentasi cuka karena berpengaruh terhadap kualitas produk fermentasi yang dihasilkan. Selain lama fermentasi, varietas buah naga (buah naga merah dengan daging buah putih dan buah naga kulit merah dengan daging buah merah) juga diduga berpengaruh terhadap karakteristik cuka yang dihasilkan. Oleh karena itu, diharapkan dengan adanya penelitian ini akan diperoleh cuka buah naga yang memiliki sifat antibakteri yang paling baik.

1.2 Perumusan Masalah

Adapun rumusan masalah yang akan dibahas adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana karakteristik cuka yang dibuat dari beberapa varietas buah naga?
2. Bagaimana aktivitas antibakteri cuka yang dibuat dari beberapa varietas buah naga?

3. Berapa lama fermentasi yang dibutuhkan untuk menghasilkan cuka buah naga dengan aktivitas antibakteri yang paling efektif ?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui karakteristik cuka yang dibuat dari beberapa varietas buah naga
2. Mengetahui aktivitas antibakteri cuka yang dibuat dari beberapa varietas buah naga
3. Mengetahui lama fermentasi yang dibutuhkan untuk menghasilkan cuka buah naga dengan aktivitas antibakteri yang paling efektif

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagaimana pembuatan cuka dari buah naga, pengaruh varietas dan lama fermentasi terhadap karakteristik cuka buah naga, meningkatkan pengetahuan dan wawasan dalam dunia penelitian mengenai potensi buah naga sebagai cuka yang memiliki sifat antibakteri, meningkatkan produk olahan pangan berbasis buah naga di Indonesia.

1.5 Hipotesa

Diduga lama fermentasi dan varietas buah naga mempengaruhi karakteristik dan aktivitas antibakteri cuka buah naga

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Buah Naga

Buah naga (*Hylocereus spp.*) adalah buah sejenis pohon kaktus. Buah naga berasal dari Meksiko, Amerika Selatan dan juga Amerika Tengah namun saat ini buah naga sudah ditanam secara komersial di Vietnam, Taiwan, Malaysia, Australia, dan Indonesia. Nama asing dari buah naga adalah “*Dragon Fruit*”, dalam bahasa latin buah naga dikenal dengan “*Phitahaya*”. Daging buah naga berwarna putih, merah, atau ungu dengan taburan biji-biji berwarna hitam yang bisa dimakan (Idawati, 2012).

Menurut Ariyanto (2006), buah naga dihasilkan tanaman sejenis kaktus, dan buah asal Mexico ini mempunyai sulur batang yang tumbuh menjalar, batangnya berwarna hijau dengan bentuk segi tiga dan bunga berwarna putih. Setelah bunga layu akan terbentuk bakal buah yang menggelayut di setiap batangnya. Kultivar aslinya tanaman ini berasal dari hutan teduh. Orang biasanya memperbanyak tanaman dengan cara setek atau menyemai biji. Tanaman akan tumbuh subur jika media tanam tidak becek, kaya akan unsur hara, berpasir, cukup sinar matahari dan bersuhu antara 38-40°C. Jika perawatan cukup baik, tanaman akan mulai berbuah pada umur 11- 17 bulan.

Tanaman buah naga merupakan salah satu tanaman yang telah dibudidayakan di pulau Jawa seperti di Jember, Malang, Pasuruan dan daerah lainnya. Bentuk buahnya unik dan menarik, kulitnya merah dan bersisik hijau mirip sisik naga sehingga dinamakan buah naga atau *dragon fruit*. Jenis buah naga ada empat, yaitu *Hylocereus undatus* (buah naga kulit merah daging putih), *Hylocereus costaricensis* (buah naga kulit merah daging super merah), *Hylocereus polhyrizus* (buah naga kulit merah daging merah), *Selenicereus megalanthus* (buah naga kulit kuning daging putih) (Cahyono, 2009).

Dalam dunia taksonomi, buah naga masuk dalam Family Cactaceae. Berikut adalah klasifikasi ilmiah dari buah naga (Idawati, 2012):

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>

Ordo : *Cactales*
Famili : *Cactaceae*
Subfamily : *Hylocereanea*
Genus : *Hylocereus*
Species : - *Hylocereus costaricensis*
 - *Hylocereus undatus*
 - *Hylocereus polhyrizus*
 - *Selenicereus megalanthus*



Gambar 2.1 Buah naga (*Hylocereus spp.*) dengan warna daging yang berbeda (Ortiz-Hernandez and Carrillo-Salazar,2012)

Berdasarkan klasifikasi buah naga dalam ilmu taksonomi, maka secara morfologis bisa digambarkan bahwa tanaman buah naga merupakan tumbuhan tidak lengkap sebab tidak memiliki daun seperti tumbuhan lainnya. Meskipun demikian, tanaman buah naga juga memiliki akar, batang, cabang, biji, dan juga bunga. Buah naga atau *Dragon fruit* merupakan buah yang eksotik, rasanya asam manis menyegarkan dan memiliki beragam manfaat untuk kesehatan (Idawati, 2012).

Kandungan serat pada buah naga sangat baik, mencapai 0,7-0,9 gram per 100 gram. Serat sangat dibutuhkan tubuh untuk menurunkan kadar kolesterol. Di dalam saluran pencernaan serat akan mengikat asam empedu (produk akhir kolesterol) dan kemudian dikeluarkan bersama tinja. Dengan demikian, semakin tinggi konsumsi serat, semakin banyak asam empedu dan lemak yang dikeluarkan oleh tubuh. Selain untuk mencegah kolesterol, kandungan serat pada buah naga juga sangat berguna dalam sistem pencernaan. Serat pangan

(*dietary fiber*) mampu memperpendek *transit time*, yaitu waktu yang dibutuhkan makanan sejak dari rongga mulut hingga sisa makanan dikeluarkan dalam bentuk feses. Kandungan gizi daging buah naga (*Hylocereus spp.*) dalam 100 gram dapat dilihat pada **Tabel 2.1**

Tabel 2.1 Komposisi gizi per 100 gram daging buah naga

Komponen	Kadar
Air (g)	82,5 - 83,0
Protein (g)	0,16 - 0,23
Lemak (g)	0,21 - 0,61
Serat (g)	0,7 - 0,9
Beta Karoten (mg)	0,005 – 0,012
Kalsium (mg)	6,3 – 8,8
Fosfor (mg)	30,2 – 36,1
Besi (mg)	0,55 – 0,65
Vitamin B1 (mg)	0,28 – 0,30
Vitamin B2 (mg)	0,043 – 0,045
Vitamin C (mg)	8 – 9
Niasin (mg)	1,297 - 1,300

Sumber : Taiwan Food Industry Develop & research Authorities (2005)

2.1.1 Buah Naga Daging Merah

Buah naga yang paling diminati konsumen dewasa ini adalah jenis buah naga merah (*Hylocereus polyhirsus*) karena buah naga merah memiliki rasa lebih manis tanpa rasa langu dibanding jenis lainnya dan diyakini lebih berkhasiat untuk kesehatan tubuh dan memiliki warna yang menarik. Hal ini ditunjang oleh riset yang dilakukan oleh Wahyuni (2012), menyatakan bahwa buah naga merah berpotensi membantu menurunkan kadar gula darah dan mencegah risiko penyakit jantung pada pasien diabetes. Selain itu diketahui bahwa pemberian buah naga daging merah ini diketahui mengandung flavonoid yang mempunyai efek hipoglikemik (Feranose, 2010).

Buah naga daging merah memiliki kulit berwarna merah yang cerah, dilingkupi dengan sisik dengan daging buah yang berwarna merah. Buah jenis ini memiliki rasa buah lebih manis dibanding buah naga daging putih karena kadar gulanya mencapai 13 – 15°briks dan rata- rata berat buahnya sekitar 400gram (Kristanto, 2008).

Pada buah naga merah lapisan merah pada daing buahnya banyak mengandung vitamin misalnya vitamin B1, B2, B3 dan C; beberapa mineral

seperti potasium, sodium, kalsium, besi, dan fosfor. Selain itu buah naga merah juga banyak mengandung nutrisi seperti lemak, protein, karbohidrat, glukosa, betacyanin, fenol, karoten, dan folifenol (Le Bellec *et al.*, 2006).

Menurut Davis (2007), buah naga merah merupakan buah yang memiliki aktivitas antioksidan yang relatif tinggi dibandingkan buah subtropis yang lain. Betasianin merupakan pewarna alami yang banyak digunakan pada produk pangan, kaya antioksidan, dan memiliki efek antimikroba, *antiproliferative* dan *radical scavenging* (Faridah *et al.*, 2014). Betasianin merupakan pigmen merah larut air yang termasuk dalam golongan betalain (Nanda *et al.*, 2014). Daging buah naga (*Hylocereus polhyrizus*) yang berwarna merah atau merah violet merupakan sumber pigmen betasianin.

Betalain merupakan pewarna alami yang banyak digunakan pada produk pangan. Pigmen ini banyak dimanfaatkan karena kegunaannya selain sebagai pewarna juga sebagai antioksidan dan radical scavenging sebagai perlindungan terhadap gangguan akibat stres oksidatif.

Buah naga merah memiliki betalains yang mengandung fenolik yang bertanggung jawab untuk kapasitas antioksidan yang utama, sedangkan betalain non-fenolik menyumbang antioksidan hanya samapi batas kecil yaitu $7,21 \pm 0,02$ mg Ce/100 gram.

2.1.2 Buah Naga Daging Putih

Varietas buah naga putih (*Hylocereus undatus*) merupakan jenis buah naga yang ditemukan pertama kali. Adapun ciri-ciri buah naga daging putih kurang lebih sama dengan jenis buah naga lainnya. Satu-satunya perbedaan yang menjadi dasar pengelompokkan varietas ini adalah pada daging buahnya. Buah naga daging putih memiliki kulit buah berwarna merah cerah lengkap dengan sisiknya namun memiliki daging buah yang berwarna putih dan dipenuhi dengan biji berwarna hitam. Buah naga daging putih memiliki karakteristik rasa manis yang tidak dominan melainkan seimbang dengan rasa asamnya (Idawati, 2012) hal tersebut dikarenakan kadar gula buah naga daging putih tergolong rendah yaitu sekitar $10 - 13^\circ \text{brix}$. Berat buah rata-rata 400 -500 gram, bahkan ada yang mencapai 650 gram (Kristanto, 2008).

Tumbuhan buah naga daging putih (*Hylocereus undatus*) memiliki kandungan senyawa kimia yaitu mineral dan flavonoid (Anggraini *et al.*, 2013). Dalam 100 g buah naga putih mengandung air 89,4 g, serat 0,3 g, kalsium 6 mg,

zat besi 0,4 mg, fosfor 19 mg, protein 0,5 g, lemak 0,1 g, niasin 0,2 mg dan vitamin C 25 mg (Gunasena dan Pushpakumara, 2006).

2.2 Cuka

Vinegar (*Sour Wine*) atau yang lebih dikenal dengan nama cuka merupakan produk hasil fermentasi alkoholik dan asetat oleh yeast dan bakteri asam asetat (Ogontoyinbo *et al.*, 2011). Bakteri asam asetat yang digunakan dalam pembuatan cuka merupakan anggota dari genus *Acetobacter* yang memiliki kemampuan untuk mengubah etil alkohol (C_2H_5OH) menjadi asam asetat (CH_3CO_2H) melalui oksidasi (Patil, 2013). Menurut FDA (Food and Drug Administration, USA), cuka adalah cairan asam, yang mengandung tidak kurang dari 4 gram asam asetat dalam 100cm³ pada 20°C.

Cuka dikenal secara luas sebagai bumbu atau pengawet makanan (Saha dan Banerjee, 2013), selain itu cuka juga banyak digunakan dalam salad dressing maupun saus (Bartowsky and Henschke, 2008). Cuka kebanyakan dibuat dari beras, malt, apel, *wine*, dan berbagai produk hasil pertanian (Raji *et al.*, 2012). Cuka alami merupakan bahan tambahan makanan yang “superior” dibandingkan cuka sintesis karena mengandung asam amino esensial dari bahan itu sendiri (Patil, 2013).

Menurut penelitian yang dilakukan the Vinegar Institute (2005), masa simpan cuka tidak terdefinisikan. Karena kondisinya yang asam, cuka tidak memerlukan bahan pengawet dan penyimpanan pada suhu rendah. “*White vinegar*” tidak mengalami perubahan selama periode waktu yang lama. Sedangkan cuka jenis lain dapat mengalami perubahan seperti perubahan warna dan adanya endapan. Namun produk tersebut masih bisa dikonsumsi.

Dalam Judoamidjoyo *et al.*, (1992), standar vinegar ditetapkan oleh “Food Standard Committee” pada tahun 1971, yang merekomendasikan definisi sebagai berikut:

- Cuka adalah cairan yang diproduksi oleh bahan yang mengandung pati dan gula melalui dua tahap proses fermentasi yaitu fermentasi alkoholik dan asetat, dan paling sedikit mengandung 4% (b/v) asam asetat.
- Cuka “*Malt*” adalah cuka yang melalui dua tahap fermentasi, alkoholik dan asetat, tanpa diselingi proses destilasi dari “barley” yang berkecambah,

dengan atau tanpa penambahan sereal, dimana pati dikonversi menjadi gula hanya oleh enzim diastase yang terkandung dalam biji "malt".

- Cuka biji-bijian adalah cuka yang diproduksi melalui dua tahap fermentasi, alkoholik dan asetat tanpa distilasi intermediet, dari biji-bijian sereal, dimana pati dikonversi menjadi gula melalui tanpa enzim diastase.
- Cuka "*spirit*" adalah cuka yang dibuat melalui fermentasi asetat terhadap destilat alkohol yang diproduksi melalui proses fermentasi alkohol dari larutan bahan baku yang mengandung gula. Jadi istilah "*spirit vinegar*" tidak boleh digunakan untuk produk yang dihasilkan melalui fermentasi asetat terhadap alkohol sintetis.

Menurut Daulay dan Rahman (1992), kriteria mutu "*vinegar*" yang utama adalah kandungan asam asetatnya. Di Amerika konsentrasi asam asetat minimal untuk cuka adalah 4% (b/v). Kebanyakan cuka dalam botol di Inggris mengandung 5% asam asetat.

Jiang *et al.*, (2013), melaporkan bahwa selain asam asetat ada 22 komponen volatile yang terdapat dalam cuka, dan komponen volatile yang paling tinggi adalah asam asetat (63,67%) kemudian yang kedua adalah *phenylethanol* (7,47%). Kemudian analisa kandungan asam organik menggunakan HPLC menunjukkan bahwa cuka mengandung 9 asam organik yaitu *Oxalic acid* (0,087%), *Tartaric acid* (0,284%), *Formic acid* (0,005%), *malic acid* (0,112%), *Lactic Acid* (0,656%), *Citric Acid* (0,053%), *succinic acid* (0,135%), *Propanoic acid* (0,389%), *Acetic Acid* (4,541%).

2.3 Fermentasi Cuka

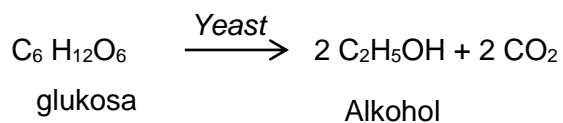
Fermentasi adalah perubahan kimia dalam bahan pangan yang disebabkan oleh enzim. Enzim yang berperan dapat dihasilkan oleh mikroorganisme atau enzim yang telah ada dalam bahan pangan. (Buckle, 1987). Fermentasi merupakan aktivitas mikroorganisme untuk memperoleh energi yang dibutuhkan untuk metabolisme dan pertumbuhannya melalui pemecahan atau katabolisme terhadap senyawa-senyawa organik secara anaerobik (Rahman, 1989). Sedangkan menurut Zubaidah (1998), makanan fermentasi adalah suatu produk makanan yang dibuat dengan bantuan mikroorganisme tertentu.

Menurut Suliantari dan rahayu (1990), proses fermentasi memiliki kelebihan yaitu mengawetkan, menghilangkan bau yang tidak diinginkan,

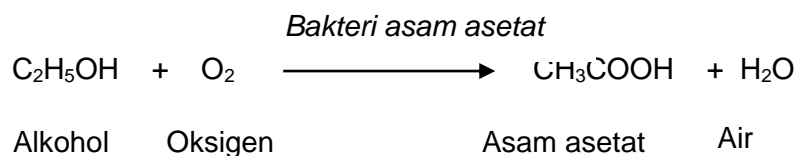
meningkatkan daya cerna, menambah flavor, menghasilkan warna yang diinginkan, dan lain-lain.

Waluyo (1984) mengatakan bahwa pembuatan *vinegar* atau larutan asam cuka melibatkan dua tahap proses fermentasi yaitu:

1. Tahap pertama: adalah proses anaerobic yang berlangsung dengan bantuan ragi, biasanya di dalam bahan yang digunakan sudah terdapat ragi secara alami, persamaan reaksi proses tersebut secara sederhana ditulis sebagai berikut :



2. Tahap kedua: adalah proses oksidasi alkohol menjadi asam asetat, oksidasi tersebut merupakan reaksi aerobik yang berlangsung melalui bakteri asam asetat, persamaan reaksinya adalah:



2.3.1 Tahap 1 : Fermentasi Alkohol

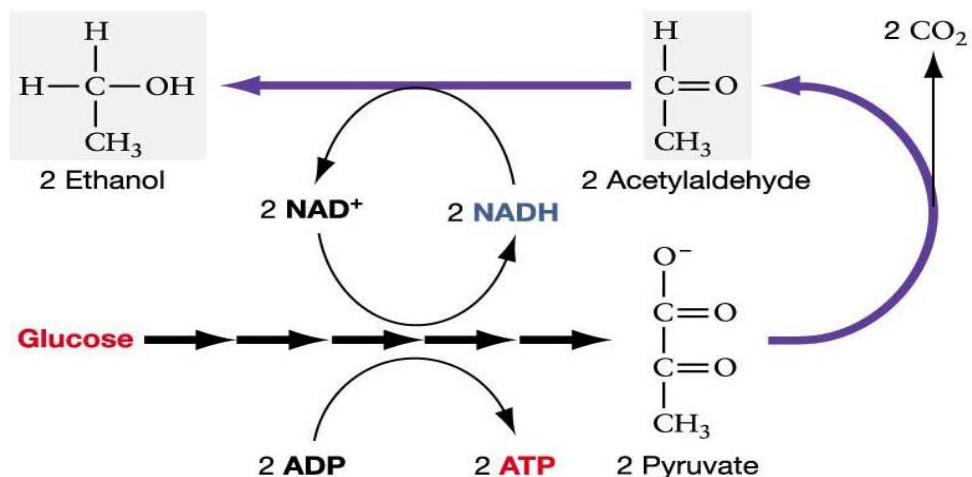
Fermentasi pembentukan alkohol dilakukan oleh *yeast Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* akan memproduksi enzim invertase yang spesifik untuk β - D- fruktufuranoside yang dapat menghidrolisa sukrosa. Sukrosa dihidrolisa menjadi glukosa dan fruktosa oleh enzim invertase yang ada dalam yeast, yang kemudian dipecah menjadi CO₂ dan alkohol (Glazer, 2007).

Menurut Fardiaz (1992) fermentasi alkohol meliputi 2 tahap yaitu :

1. Pemecahan rantai karbon jalur EMP (*Embden Mayerhof Parras*) menghasilkan karbon teroksidasi yaitu asam piruvat. Jalur EMP terdiri dari beberapa tahap, masing-masing dikatalis oleh enzim tertentu. Jalur tersebut ditandai dengan pembentukan fruktosa difosfat, dilanjutkan dengan pemecahan fruktosa difosfat menjadi 2 molekul gliseraldehida fosfat yang dikatalisa oleh enzim aldolase. Kemudian terjadi reaksi dehidrogenasi gliseraldehida fosfat (fosfoglisericida) yang merupakan reaksi oksidasi yang menghasilkan energi dalam bentuk ATP. Reaksi ini dikatalisis oleh enzim gliseraldehida fosfat dehidrogenase. Atom hidrogen yang terlepas kemudian

akan ditangkap oleh Nikotinamida-Adenin-Dinukleotida (NAD) membentuk NADH_2 . Proses fermentasi dapat berlangsung terus jika NADH_2 dapat dioksidasi kembali pada tahap kedua fermentasi sehingga melepaskan atom hidrogen kembali. Jadi NAD berfungsi sebagai pembawa hidrogen dalam proses fermentasi.

2. Asam piruvat akan diubah menjadi asetaldehid menggunakan enzim piruvat kinase dan menghasilkan gas CO_2 , kemudian asetaldehid di ubah menjadi produk akhir etanol (alkohol) menggunakan enzim asetaldehid dehidrogenase.



Gambar 2.2 Proses Fermentasi Alkohol (Ghant, 2010)

Selain memfermentasi etanol sebagai metabolit primer, *Saccharomyces cerevisiae* juga dapat menghasilkan asam laktat dan asam sitrat. Senyawa asam tersebut terbentuk dari perubahan piruvat melalui bantuan enzim piruvat dekarboksilase dan asetaldehid dehidrogenase (Toharisman dan Marantes, 1997). Etanol biasanya digunakan sebagai minuman, zat pembunuh kuman, bahan bakar dan pelarut. Menurut Daulay dan Rahman (1992), untuk setiap 180g glukosa dihasilkan 92 g etanol, 88 g CO_2 dan energi (ATP), sehingga secara teoritis tiap 1 g glukosa menghasilkan 0,51 g etanol dan 0,49 g CO_2 .

Beberapa faktor yang mempengaruhi fermentasi alkohol adalah:

- a). Spesies Sel Khamir

sel khamir yang biasa digunakan dalam fermentasi alkohol adalah dari spesies *Saccharomyces cerevisiae*. Khamir ini dapat mengubah glukosa

menjadi alkohol dan CO₂. Ciri-ciri kultur yang baik adalah mudah tumbuh, tahan alkohol dan gula tinggi, efisien dalam mengubah karbohidrat menjadi alkohol dan tidak banyak berubah karena adanya perubahan pH, suhu dan tekanan osmosis. Umumnya fermentasi dapat berhasil memuaskan bila khamir yang digunakan berasal dari kultur murni dari ragi roti (Hidayat dan Kumalaningsih, 1995).

b). Jumlah Inokulum

Seleksi terhadap jumlah inokulum yang ditambahkan menentukan kualitas dan kuantitas hasil fermentasi. Kriteria paling penting bagi kultur mikroba agar dapat digunakan sebagai inokulum yaitu sehat, berada dalam keadaan aktif, tersedia dalam jumlah yang cukup dan bebas dari kontaminan (Rahman, 1989 dalam Rianto 2004). Hasil penelitian Hidayat *et al.*, (1997), menunjukkan bahwa jumlah ragi 0,5% menghasilkan alkohol yang optimum.

c). Konsentrasi Gula

Buah-buahan sebagai bahan baku pembuatan cuka umumnya mengandung kadar gula yang rendah. Oleh karena itu, sebelum digunakan sebagai bahan baku untuk memproduksi cuka, sari buah yang diekstrak dari buah-buahan terlebih dahulu dipekatkan atau ditambahkan sukrosa sampai kandungannya mencapai 10 - 25% (b/v) (Daulay dan Rahman, 1992). Sedangkan menurut Wood (1998), bahan baku pembuatan cuka yang terlalu tinggi kandungan gulanya harus diencerkan hingga kandungan gulanya mencapai 10 - 15% (b/v). Penambahan sukrosa 12,5% (b/v) menghasilkan alkohol yang optimum pada fermentasi alkohol dari jerami nagka (Muafi, 2004).

d). pH

Khamir dapat bertahan dalam kisaran pH yang cukup luas dapat tumbuh dengan baik pada pH antara 3,6-6,0. pH optimum antara 4,5-5,0. Pada fermentasi komersial biasanya mengkondisikan pada level 4,5-6,0 (Reed and Nagodawithana, 1991).

e). Suhu

Menurut Daulay dan Rahman (1992), suhu optimum untuk pertumbuhan dan aktivitas sel khamir adalah 27-30°C. Proses yang berlangsung lambat dan lama pada suhu rendah akan menghasilkan wine dengan flavor yang lebih tinggi. Tetapi jika suhu terlalu tinggi merupakan kondisi yang sesuai bagi mikroorganisme lain, misalnya bakteri *Lactobacillus* akan tumbuh dan menimbulkan kerusakan pada wine.

f). Sumber Nutrisi

Pertumbuhan mikroba industrial memerlukan senyawa nitrogen baik dalam bentuk organik maupun anorganik. Garam organik yang biasanya digunakan adalah garam-garam ammonium nitrat atau urea. Sumber N organik yang terbukti bermanfaat adalah pepton, ekstrak khamir, tepung kedelai, ekstrak kecambah kacang hijau dan lain-lain. Penambahan senyawa organik seringkali meningkatkan pertumbuhan mikroba dan produk kataboliknya (Suhartono, 1989).

g). Oksigen

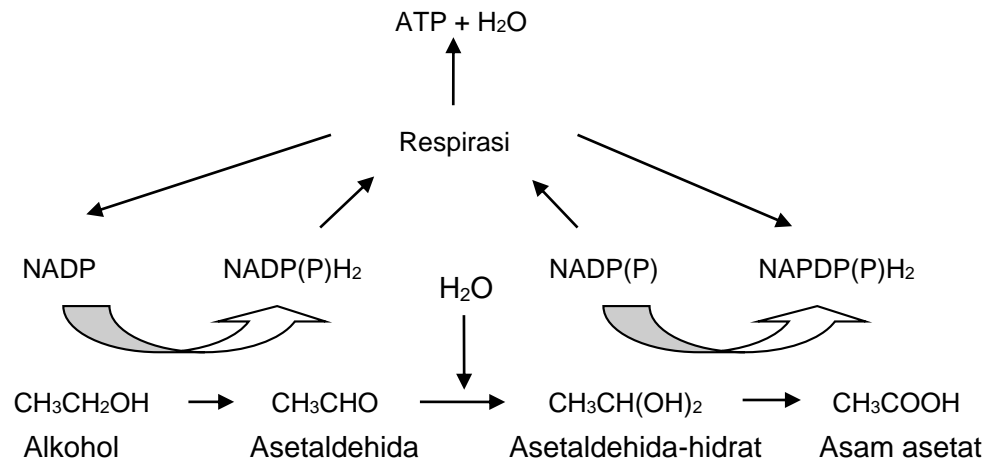
Saccharomyces dapat tumbuh dengan baik dan memproduksi massa sel yang lebih besar pada kondisi aerob tapi mereka dapat menfermentasi gula lebih cepat pada kondisi anaerob (Potter and Hotchkiss, 1995). Fermentasi alkohol berlangsung secara anaerob (tanpa udara), namun demikian udara diperlukan saat proses pembibitan sebelum fermentasi untuk perkembangbiakan khamir tersebut (Hidayat dan Kumalaningsih, 1995).

2.3.2 Tahap 2 : Fermentasi Asam Asetat

Proses pembentukan asam asetat pada dasarnya lebih merupakan proses oksidasi tidak sempurna dari pada proses fermentasi yang sebenarnya karena dalam proses ini daya pereduksi yang dihasilkan dipindahkan ke molekul oksigen. Pada tahap pertama etanol dioksidasi menjadi asetaldehid dengan bantuan enzim alkohol dehidrogenase dan NAD dan NADP sebagai koenzim. Asetaldehid kemudian mengalami hidrasi sehingga terbentuk asetaldehid-hidrat. Pada tahap kedua asetaldehid-hidrat dioksidasi menjadi asam asetat dengan bantuan enzim asetaldehid dehidrogenase (Wood, 1998).

Menurut Daulay dan Rahman (1992), pada fermentasi asam asetat hampir semua etanol pada medium atau sekitar 95-98% etanol dioksidasi menjadi asam asetat. Sisanya hilang bersama gas yang keluar. Pada saat yang sama, sumber karbon (biasanya glukosa) juga teroksidasi. Hasil oksidasi ini adalah CO₂ dan H₂O. Setelah terbentuk asam asetat fermentasi harus segera dihentikan supaya tidak terjadi fermentasi lebih lanjut oleh bakteri pembusuk, yang dapat menimbulkan kerusakan (Prescott *et al.*, 2002).

Diagram alir proses oksidasi alkohol menjadi asam asetat adalah sebagai berikut:



Gambar 2.3 Diagram Oksidasi Alkohol menjadi Asam Asetat (Crueger and Crueger, 1982 *dalam* Daulay dan Rahman, 1992).

Faktor Faktor yang Diperhatikan dalam Pembuatan Vinegar (Asam Asetat) adalah :

1. Jumlah Inokulum

Seleksi terhadap jenis dan jumlah inokulum yang akan ditambahkan menentukan kualitas dan kuantitas dari hasil fermentasi. Kriteria penting bagi kultur mikroba agar dapat digunakan sebagai inokulum yaitu sehat dan berada dalam keadaan aktif, tersedia dalam jumlah yang cukup, berada dalam morfologi yang sesuai, bebas dari kontaminan dan kemampuannya dalam membentuk produk (Rahman, 1989 *dalam* Rianto, 2004).

Dalam Rianto (2004), jumlah inokulum *Acetobacter aceti* yang digunakan sebesar 15% dengan kadar asam asetat yang dihasilkan sebesar 4,29%.

2. Kualitas bahan dasar

Sebagai bahan dasar adalah semua bahan yang dapat difermentasikan menjadi alkohol. Bisa dari jus buah buahan seperti buah apel, anggur, jeruk, bahan bahan bergula , beer, anggur/ wine.

3. Konsentrasi Alkohol

Konsentrasi alkohol yang digunakan berbeda-beda antara lain yang dikemukakan oleh Hotmaka and Ebner (1995) sebesar 5-7% dan Hidayat *et al.*, (1997) tidak lebih dari 7%. Pada konsentrasi alkohol 14% tidak dihasilkan asam asetat dengan sempurna (Prescott *et al.*, 2002).

4. Lama fermentasi

Lama fermentasi akan mempengaruhi produk fermentasi yang dihasilkan. Waktu fermentasi yang terlalu pendek akan menghasilkan produk yang sedikit karena substrat tidak seluruhnya terdegradasi, sedangkan waktu fermentasi yang terlalu panjang, asam asetat akan teroksidasi menjadi CO₂ dan H₂O (Hotmaka and Ebner, 1995).

Menurut Hidayat *et al.*, (1997) proses oksidasi alkohol paling baik dilakukan lebih dari 10 hari. Fermentasi asam asetat dari air kelapa dalam waktu 12 hari mampu menghasilkan asam asetat sebesar 3,62%. Menurut Rianto (2004), fermentasi asam asetat dari sari tomat menghasilkan kadar asam asetat sebesar 2,13% dengan waktu fermentasi asam asetat selama 15 hari, sedangkan menurut Muafi (2004), lama fermentasi asam asetat dari jerami nagka dalam waktu 16 hari mampu menghasilkan asam asetat sebesar 4,29%.

5. Oksigen

Konsentrasi oksigen terlarut sangat penting untuk pertumbuhan sel mikroba dalam menghasilkan asam asetat. Kecepatan aerasi diperlukan untuk mengatur konsentrasi oksigen terlarut pada medium fermentasi. Udara pada tekanan 1 atmosfer merupakan sumber karbon yang baik, tetapi konsentrasi oksigen yang terlalu tinggi akan meracuni bakteri begitu pula terlalu rendah (Hidayat *et al.*, 1997).

Besarnya aerasi yang digunakan oleh beberapa peneliti berbeda-beda antara lain: Hidayat *et al.*, (1997) 1 vvm dengan bahan dasar singkong, Wignyanto *et al.*, (1997) 0,06 vvm dengan bahan dasar tetesan fermentasi biji kakao, Muafi (2004) dan Rianto (2004) menggunakan aerasi sebesar 0,07 vvm dengan bahan dasar jerami nangka dan tomat. Menurut Hidayat *et al.*, (1997), pada kecepatan aerasi 0,07 vvm telah diperoleh efisiensi sebesar 63%. Kebutuhan oksigen untuk proses fermentasi asetat yaitu sebesar 7,2 mg/L (Ribereau-Gayon, 1985 dalam Du Toit and Pretorius, 2000).

6. Suhu

Suhu optimum selama fermentasi asam asetat adalah 15 – 35°C (Prescott and Dunn, 1959) dan 21-29°C (Wibowo, 1990). Suhu maksimal pertumbuhan *Acetobacter aceti* adalah 35°C (De Ory *et.al.*, 1998). Penggunaan suhu yang tepat berpengaruh pada hasil cuka akhir. Pada suhu yang rendah rendah fermentasi akan berjalan lambat sedangkan pada suhu tinggi akan banyak alkohol yang menguap bersama-sama dengan bahan-bahan volatil yang

membentuk flavor dan aroma dari asam cuka, sehingga asam cuka yang dihasilkan akan mempunyai flavor ataupun aroma yang kurang sedap/ enak.

7. pH

Bakteri asam asetat dapat tumbuh optimal pada pH antara 5,4-6,3, namun pada pH 3,0-4,0 bakteri ini masih dapat bertahan hidup (Du Toit and Pretorius, 2000).

2.4 Mikroorganisme Yang Berperan Dalam Fermentasi Cuka

Kelempok bakteri yang dikenal sebagai “*Vinegar Bacteria*” merupakan anggota *Acetobacter sp*. Bakteri asam asetat dikelompokkan menjadi 2, yaitu *Acetobacter* dan *Gluconobacter*, yang dibedakan karena kemampuannya mengoksidasi asetat atau laktat (Lu *et al.*, 1999). *Acetobacter* lebih banyak digunakan untuk pembuatan cuka karena lebih kuat dalam mengoksidasi etanol sedangkan *Gluconobacter* lebih menyukai glukosa dibandingkan etanol. Jenis *Acetobacter* yang sering digunakan adalah *Acetobacter aceti* (Ogontoyinbo *et al.*, 2011), *Acetobacter pasteurianus* (Yang *et al.*, 2011), *Acetobacter Polyoxogenes*, dan *Acetobacter europaeus* (Jayatiessa, 1983). Bakteri yang digunakan dalam pembuatan cuka merupakan bakteri mesofilik dengan temperatur optimum untuk pertumbuhannya adalah 30°C (Lu *et al.*, 1999).

Cuka atau vinegar bisa dibuat dari substrat yang mengandung gula, pati ataupun dari substrat yang mengandung alkohol. Pada cuka yang terbuat dari substrat yang mengandung pati atau gula, yeast dibutuhkan untuk mengubah pati atau gula menjadi alkohol. Yeast yang biasa digunakan dalam pembuatan cuka adalah *Saccharomyces cerevisiae*.

2.4.1 *Acetobacter pasteurianus* IFO 3283

Acetobacter pasteurianus merupakan salah satu spesies bakteri yang berperan dalam pembuatan vinegar. *Acetobacter pasteurianus* merupakan bakteri gram negatif, berbentuk bulat yang tahan asam (*acidophilic*), dan dikenal karena oksidasi tidak sempurna dari karbohidrat dan alkohol pada pH rendah oleh membran dehydrogenase (Clennwerck and De Vos, 2008).

Acetobacter pasteurianus ditemukan dalam cuka dengan konsentrasi lebih rendah daripada *Gluconacetobacter* (Nanda *et al.*, 2001; Haruta *et al.*, 2006). *Acetobacter pasteurianus* umumnya terkait dalam pembuatan cuka dari alkohol

maupun *wine*, misalnya pembuatan “*wine vinegar*” secara tradisional (Vegas *et al.*, 2010), produksi cuka dari beras (Nanda *et al.*, 2001; Haruta *et al.*, 2006) dan produksi cuka dengan metode balsamic secara tradisional (Gullo *et al.*, 2009; De Vero *et al.*, 2006).

Acetobacter pasteurianus NBCR 3283 , pertama kali diisolasi dari pelikel yang terbentuk di permukaan cuka (Azuma *et al.*, 2009). Media pertumbuhan yang digunakan adalah YPG dan suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah 30°C. Pada tahun 1954 dan 1974 *Acetobacter pasteurianus* NBCR 3283 diremajakan setiap 3 bulan sekali. Dimanana koloni sel dari stock agar yg disimpan pada suhu 5°C diambil dan diinokulasikan pada media kentang dan diinkubasi pada suhu 28°C selama 4 hari.

Menurut Azuma *et al.*, (2009), *Acetobacter pasteurianus*, dapat bertahan pada suhu 39°C namun pada suhu 40°C pertumbuhannya tidak stabil dan pada suhu 40,5°C *Acetobacter pasteurianus* tidak tumbuh sama sekali.



Gambar 2.4 *Acetobacter pasteurianus* (Smooth type) NBCR 3283 yang telah diisolasi (Azuma *et al.*, 2009)

2.4.2 Ragi komersial “Fermipan”

Menurut Nurhayani (2000), ragi adalah suatu inokulum atau starter yang digunakan untuk fermentasi. Jenis-jenis ragi yang beredar secara komersial terdiri atas isolat kapang dan khamir, berdasarkan kandungan tersebut ragi berperan dalam mengubah pati menjadi gula sederhana. Ragi instant yang terdapat di pasaran terdiri atas 2 jenis, yaitu berbentuk butiran halus dan berbentuk bulat pipih. Ragi instant atau ragi dadak merupakan jenis ragi yang dapat langsung

dicampur dengan bahan lainnya, contohnya adalah Fermipan, Mauripan, Saf-instant yang berbentuk butiran halus (Nurhayani, 2000)

Komposisi dari ragi komersial Fermipan adalah *Saccharomyces cerevisiae* dan Sorbitan monostearate yang merupakan pengemulsi, produk yeast komersial ini digunakan dengan ditambahkan air. Ragi komersial “Fermipan” sering digunakan dalam fermentasi alkohol salah satunya adalah produksi bioetanol dari sorghum varietas CTY33, fermentasi menggunakan ragi Fermi menghasilkan kualitas dan kuantitas biotenaol yang lebih baik dibandingkan ragi komersial jenis lain (Suparti *et al.*, 2012). Proses pembuatan etanol dari nira menghasilkan etanol sebesar 4.8%-5% menggunakan yeast komersial “Fermipan” (Lay dan Heliyanto, 2011).



Gambar 2.5 Ragi komersial Fermipan (Anonymous, 2015)

Saccharomyces cerevisiae bersifat fakultatif anaerob, suhu optimum pertumbuhannya yaitu 30°C, suhu maksimumnya adalah 35-37°C, sedangkan suhu minimunnya adalah 9-11°C. *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan glukosa sebagai sumber karbon pertumbuhannya. Selain glukosa sebagai sumber karbon unsur-unsur yang dibutuhkan *Saccharomyces cerevisiae* untuk pertumbuhannya adalah nitrogen, hidrogen, belerang, dan fosfor.

2.5 Bahan Tambahan yang Digunakan

2.5.1 Sukrosa

Sukrosa merupakan senyawa oligosakarida (tepatnya disakarida) yang secara sistematis kimiawi disebut D-glukopiranosit – β -d – fruktofuranosida. Secara komersial sukrosa diproduksi dari tebu dan bit (Tranggono, 1990). Menurut Winarno (1995), sukrosa termasuk disakarida yang terdiri dari molekul glukosa

dan fruktosa. Ikatan antara molekul tersebut dihubungkan oleh ikatan glikosida yang terbentuk antara gugus hidroksil dari atom C nomer satu pada glukosa yang juga disebut karbon anumerik dengan gugus hidroksil dari atom C nomer 4 pada molekul fruktosa. Sukrosa memiliki kelarutan dalam air dan tidak mempunyai gugus OH bebas reaktif karena kedua molekul penyusunnya sudah saling terikat sehingga bersifat non pereduksi.

Sukrosa atau gula pasir merupakan salah satu sumber karbon bagi mikroorganisme (Wibowo, 1990). Sukrosa mudah dihidrolisis menjadi D-glukosa dan D-fruktosa. Hidrolisa biasa disebut dengan proses inversi dan akan diikuti oleh perubahan rotasi optik dari kanan ke kiri apabila tercapai campuran dalam jumlah yang sama antara glukosa dan fruktosa maka campuran tersebut disebut gula invert (Winarno, 1995). Pada nutrient seperti glukosa, hambatan tidak akan terjadi sampai konsentrasi yang sangat tinggi (misalnya lebih tinggi dari 100 – 150 g/L), tetapi ketika konsentrasi mencapai 350 – 500 g/L sebagian mikroorganisme tidak memungkinkan adanya pertumbuhan, karena terjadi dehidrasi sel dalam larutan yang pekat (Judoamidjojo, 1992).

Kebanyakan Khamir dapat menggunakan sukrosa sebagai sumber gula untuk metabolisme. Inversi Sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa dilakukan oleh invertase sebelum khamir menggunakan sumber gula ini (Mc William, 2001).

2.5.2 Diamonium Hidrogen Phosphat ((NH₄)₂HPO₄)

Amonium phosphat baik dalam mono ataupun dibasis adalah bahan tambahan makanan yang berfungsi sebagai penyangga dan agen penetral. Batas maksimum penggunaan amonium phosphat baik mono maupun dibasis menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.235/ Men.Kes/ Per/ VI/ 79 adalah secukupnya untuk jenis makanan soda, kue, roti, bir dan makann lainnya (Desrosier,1988). Menurut Prescott and Dund (1959), amonium sulfat dan Diamonium Hidrogen Phosphat adalah bahan yang paling cocok digunakan sebagai sumber nitrogen karena mudah didapat dan harganya murah. Penggunaan nitrat dan kalsium nitrat tidak menguntungkan bahkan cenderung menghambat mikroorganisme.

Amonium Phosphat biasanya dipasarkan dalam bentuk kristal halus berwarna putih. Amonium phosphat mempunyai kandungan nutrient yang tinggi yaitu phosphor(P) dan nitrogen(N), mempunyai kelarutan yang tinggi dan mempunyai sifat yang stabil dalam penanganan penyimpanan.

2.6 Antibakteri

Senyawa antimikroba didefinisikan sebagai senyawa biologis atau kimia yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba. Senyawa antimikroba adalah jenis bahan tambahan makanan yang digunakan dengan tujuan untuk mencegah kebusukan atau keracunan oleh mikroorganisme pada bahan pangan. Beberapa jenis senyawa yang mempunyai aktivitas antimikroba adalah sodium benzoat, senyawa fenol, asam-asam organik, sulfur dioksida, nitrit, senyawa kolagen, dimetil karbonat, dan metil askorbat (Brenen *et al.*, 1980).

Antibakteri adalah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri. Berdasarkan toksisitas, ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri yang dikenal sebagai aktivitas bakteriostatik, dan ada yang bersifat membunuh bakteri yang dikenal sebagai aktivitas bakterisidal (Gan, 1987).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi menjadi lima kelompok: (1) yang mengganggu metabolisme sel bakteri; (2) yang menghambat sintesa dinding sel bakteri; (3) yang merusak keutuhan membran sel bakteri; (4) yang menghambat sintesa sel bakteri; dan (5) yang menghambat sintesa atau merusak asam nukleat sel bakteri (Gan, 1987).

Berikut adalah mekanisme kerja antibakteri :

1. Menghambat metabolisme sel

Komponen ini bisa disebut juga antimetabolit yang secara efektif menghambat reaksi metabolisme bakteri. Antimetabolit biasanya dalam bentuk analog substrat, dan juga merupakan komponen yang memiliki struktur dengan kemiripan yang dekat sekali dengan substrat dari sebuah enzim dan akan bersaing pada sisi aktif enzim. Jika konsentrasi dari penghambat cukup tinggi, maka penghambat akan berhasil bersaing dengan substrat dan mencegah konversi substrat menjadi produk (Mckane dan Kandel, 1986).

2. Menghambat sintesis dinding sel

Dinding sel bakteri secara kimia adalah peptidoglikan, yaitu suatu kompleks polimer glukopeptida (glikopeptida). Antibakteri menghambat reaksi yang paling dini dalam proses sintesis dinding sel dan ditahap akhir menghambat reaksi terakhir dari sintesis dinding sel, yaitu dengan menghambat reaksi transpeptidasi dalam rangkaian reaksi tersebut. Oleh karena itu tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi dari pada diluar sel, sehingga akan mengakibatkan kerusakan dinding sel akibat lisis (Gan, 1987).

3. Mengganggu keutuhan membran sel

Ada senyawa antibakteri yang dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan asam fosfat pada fosfolipid membran sel bakteri, untuk jenis ini tidak efektif pada bakteri gram positif karena jumlah fosfor bakteri gram positif rendah. Mekanisme lain antibakteri yaitu mengubah tegangan permukaan (*surface active agent*), yang dapat merusak permeabilitas selektif dari membran sel bakteri. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari bagian dalam sel bakteri seperti protein, asam nukleat, nukleotida, dan lain-lain (Gan, 1987). Selain itu menurut Mckane dan Kandel (1986), antibakteri jenis ini akan mengikat fosfolipid dalam membran bakteri, dan mengganggu permeabilitas membran. Hal ini mengakibatkan kebocoran dari molekul-molekul kecil dan kematian sel.

4. Menghambat sintesa protein

Beberapa antibakteri secara selektif menghambat sintesa protein bakteri dengan cara melumpuhkan ribosom prokariotik. Sementara menyebabkan efek kerusakan kecil pada ribosom prokariotik (Mckane dan Kandel, 1986)

Gan (1978) menyatakan bahwa untuk kehidupan sel bakteri perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri ribosom terdiri dari dua sub unit, yang berdasarkan konstanta berdimensi 30s dan 50s.

Penghambatan sintesa protein terjadi dengan berbagai cara yaitu :

- Antibakteri berikatan dengan komponen ribosom 30s, menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca tRNA pada waktu sintesis protein, sehingga menyebabkan terbentuknya protein yang abnormal dan nonfungsional bagi bakteri.
- Berikatan dengan ribosom 30s dan menghalangi masuknya kompleks tRNA asam amino pada lokasi asam amino
- Berikatan dengan ribosom 50s dan menghambat pengikatan asam amino baru pada rantai polipeptida oleh enzim peptidil transferase.

5. Menghambat sintesis asam nukleat

Antibakteri menghambat transkripsi mRNA dan DNA dengan mengikat dan menginaktivasi polimerase mRNA bakteri (Mckane dan Kandel, 1986).

2.6.1 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri adalah teknik untuk mengukur seberapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi

mikroorganisme (Dart, 1996). Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu 10^5 - 10^8 CFU/mL (Hermawan *et al.*, 2007).

Metode uji antibakteri dibagi menjadi dua, yaitu difusi dan dilusi. Metode difusi kemudian dibagi lagi menjadi metode disk, sumuran, dan parit. Sedangkan metode dilusi dibagi menjadi broth dilution dan agar dilution (Arthur, 1980). Yang membedakan dua macam metode ini adalah berdasarkan media yang digunakan. Metode difusi menggunakan medium padat sedangkan metode dilusi menggunakan medium cair (Brunton *et al.*, 2005).

Dari beberapa metode tersebut, metode yang sering digunakan adalah metode difusi disk. Metode disk ini termasuk dalam metode difusi. Selain metode disk, metode difusi yang lain adalah metode sumuran dan metode parit (Kusmayati dan Agustini, 2007). Tujuan dari ketiga metode tersebut adalah untuk mengamati diameter zona hambat terhadap bakteri uji (Gan, 2007).

Metode sumuran jarang digunakan untuk melakukan penelitian karena sulitnya proses perlakuan, namun berdasarkan banyak teori, hasil dari metode sumuran akan lebih mudah terlihat dan lebih menampakkan hasil yang nyata (Warsa, 1994)

Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmayati dan Agustini, 2007). Kriteria yang digunakan dalam penelitian untuk menggolongkan daya hambat senyawa antibakteri menurut Davis and Scout (1971) yaitu : diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5 – 10 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.

2.6.2 Bakteri Indikator

2.6.2.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif, berbentuk kokus dengan diameter 0.5-1.5 μm dan termasuk famili Micrococcaceae. *S. aureus* hidup secara aerobik ataupun anaerobik fakultatif. Sifat lainnya adalah nonmotil dan tidak membentuk spora (Parker, 2000). *S. aureus* tahan garam dan tumbuh baik pada medium yang mengandung 7.5% NaCl, serta dapat memfermentasi manitol. Pada umumnya *S. aureus* mampu memproduksi pigmen kuning keemasan dan koagulase, sehingga dapat dibedakan atas beberapa grup berdasarkan sifat imunitas koagulasenya, yaitu koagulase tipe I sampai VIII. Suhu optimum pertumbuhan *S. aureus* adalah 35-37°C, dengan suhu minimum 6.7 dan suhu maksimum 45.5°C. *S. aureus* dapat tumbuh pada pH 4.0-9.8 dengan pH optimum sekitar 7.0-7.5. Pertumbuhan pada pH mendekati 9.8 hanya mungkin bila substratnya mempunyai komponen yang baik untuk pertumbuhannya.

Keracunan oleh *S. aureus* disebabkan tumbuhnya bakteri ini di dalam bahan pangan dan membentuk enterotoksin sebagai produk metabolitnya. Keberadaan *S. aureus* tidak wajar dalam makanan. Makanan yang terkontaminasi *S. aureus* biasanya berasal dari kulit manusia yang kontak dengan makanan (Adam dan Moss, 1995). Pada bahan pangan yang telah dimasak, *S. aureus* dapat terus berkembang mencapai tingkat yang membahayakan padahal bakteri lain akan terhambat.

Hampir seluruh *strain S. aureus* bersifat patogen dan dapat memproduksi 6 jenis enterotoksin (A, B, C1, C2, D, dan E) dengan tingkat toksisitas yang berbeda yang tahan panas, dimana ketahanan panasnya melebihi sel vegetatifnya. Sebagian besar kasus keracunan makanan disebabkan oleh enterotoksin tipe A. *S. aureus* sering menyebabkan orang yang mengonsumsi susu dari sapi yang menderita mastitis stafilokoki menjadi sakit (Parker, 2000).

2.6.2.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli pada umumnya merupakan mikroba yang secara normal terdapat dalam saluran pencernaan manusia dan hewan. Bakteri ini berbentuk batang atau koma, bersifat anaerobik fakultatif dan tergolong sebagai bakteri Gram negatif, bersifat motil dan nonmotil dengan flagella, dan bersifat fakultatif anaerob. Nilai pH optimum untuk pertumbuhannya adalah 7.0-7.5, sedangkan

kisaran suhu pertumbuhannya 10-40°C dengan suhu optimum 37°C. *Eschericia coli* relatif sangat sensitif terhadap panas dan dapat diinaktifkan pada suhu pasteurisasi makanan atau selama pemasakan makanan (Fardiaz, 1992).

Eschericia coli disebut juga koliform fekal karena ditemukan pada saluran usus hewan dan manusia. Bakteri ini sering digunakan sebagai indikator kontaminasi kotoran (Fardiaz, 1992). Bakteri ini merupakan bakteri yang pertama dikenal sebagai penyebab gastroenteritis pada pekerja di Inggris dan penyebabnya adalah *childhood diarrhoea* di beberapa negara berkembang (Adams dan Moss, 1995). Tidak semua *Eschericia coli* mampu memproduksi toksin yang dapat menyebabkan penyakit, tetapi hanya galur Enteropatogenik *Eschericia coli* (EEC) saja. EEC menghasilkan dua enterotoksin, yaitu toksin yang tidak tahan panas yang hancur oleh pemanasan 60°C selama 15 menit, dan toksin yang tahan panas dan tetap aktif meskipun dipanaskan selama 30 menit pada suhu 100°C. Makanan yang sering terkontaminasi adalah daging ayam, daging sapi, ikan, dan makanan hasil laut, telur dan produk telur, sayuran, buah-buahan dan sari buah (Fardiaz, 1992).

2.7 Cuka sebagai Antibakteri

Senyawa antibakteri yang diharapkan muncul pada proses fermentasi cuka adalah asam asetat yang terbentuk dari proses oksidasi alkohol. Asam asetat atau asam etanoat (CH_3COOH) adalah suatu cairan tidak berwarna yang memiliki aroma tajam dan rasa asam. Asam asetat terionisasi secara lemah dalam larutan encer, dan sejak dahulu digunakan sebagai bahan pengawet karena efek antimikrobanya (Naidu, 2000)

Asam asetat termasuk anggota asam organik. Asam organik termasuk antimikroba golongan GRAS, dan cairan dengan kandungan asam organik sebanyak 1-3% tidak akan menyebabkan efek sensori yang tidak diinginkan (Smulder *et al.*, 1998). Menurut Raftari *et al.*, (2009), penggunaan asam asetat sebanyak 2% sudah dapat menurunkan *e.coli* sebanyak 1,3 log cfu/gr dan semakin tinggi konsentrasi asam organik yang digunakan maka penurunan jumlah *e.coli* juga semakin tinggi. Ray and Bhunia (2014), menambahkan bahwa cuka memiliki efek bakteriostatik pada konsentrasi 0,2% dan efek baktericidal pada konsentrasi diatas 0,3% dan efek antibakteri tersebut tergantung oleh pH.

Efek antimikrobia asam asetat tergantung pada penurunan pH pada rentang pertumbuhan dan penghambatan metabolik oleh molekul-molekul asam yang tidak terpecah (takterdisosiasi) (Jay, 1992). Selain itu efek antimikrobia asam asetat juga bergantung pada sifat lipofiliknya, yang akan menentukan tingkat kemudahan untuk memasuki bagian dalam sel (Ray, 1996). Menurut Luck dan Jager (1997), substansi lipofilik akan menyerang membran sel, menghancurkan atau menembus sel bakteri. Hal ini menyebabkan proton mengalir kedalam sel. Sel kemudian harus menggunakan banyak energi untuk mengimbangi penetrasi asam kedalam sel, sehingga terjadilah perbedaan potensial.

Efek antibakteria dari asam organik disebabkan oleh bentuknya yang tidak terdisosiasi. Asam organik yang tidak terdisosiasi dapat secara pasif berdifusi kedalam sel bakteri dan ketika asam organik masuk kedalam sel sitoplasma yang memiliki PH netral, asam organik akan terdisosiasi menjadi anion dan proton, yang mana akan menyebabkan munculnya efek penghambatan pada bakteri. Pelepasan ion proton menyebabkan PH internal menurun yang menyebabkan gangguan proton dan menghambat mekanisme transportasi substrat (Raftari *et al.*, 2009). Selain itu tingginya asam asetat pada cuka akan menurunkan PH cuka, yang mana penurunan PH tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Telah diketahui bahwa kebanyakan mikroorganisme tumbuh baik pada pH 7 (Shin *et al.*, 2002), sehingga penurunan pH juga merupakan salah satu factor penghambat bakteri.

Saat asam asetat terlarut dalam suatu larutan, asam tersebut akan terdisosiasi untuk melepaskan proton-proton bebas yang menyebabkan penurunan pH larutan. Peningkatan jumlah proton pada permukaan luar mikroorganisme dapat mengganggu fungsi membran dengan cara mendenaturasi enzim dan mengubah permeabilitas yang menyebabkan destabilitas membran. Asam asetat yang tidak terdisosiasi juga dapat melalui "lipid bilayer" bakteri dan khamir serta melepaskan proton ke dalam sitoplasma. Proton intraselular yang berlebih dapat mengasamkan sitoplasma dan menyebabkan denaturasi protein serta kehilangan energi atau ATP. Karena ATP diperlukan untuk transpor aktif nutrient melalui membran, ketika ATP berkurang transfer nutrient ke dalam sel berkurang sehingga dapat menghambat sintesis protein atau bahkan membunuh bakteri (Naidu, 2000).

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboraturium Mikrobiologi, Laboratorium Biokimia dan Analisa Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian (THP) dan Laboraturium Fisika Dasar Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan November 2014 hingga Juli 2015.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam pembuatan cuka buah naga ini adalah *incubator* (Binder), Autoklaf (HL36AE), timbangan analitik (Denver Instrument M-310), perangkat fermentor, aerator “ Blue Sky BS-410” , *juicer* (Miyako), pisau, *glasswere*, kompor listrik, bunsen, jarum ose.

Alat yang digunakan untuk analisa cuka buah naga adalah Spektrofotometer (UNICO UV-2100), PH meter (Hanna Pocket), refraktometer, vortex (VM-2000), centrifuge (Hettich EBA 8), alkohol meter, timbangan analitik (Denver Instrument M-310), mikropipet 100-1000 μ L (Labsystem Finpipette Digital), Laminar Air Flow bakteri (Lokal), tabung reaksi, kompor listrik (Maspion) labu ukur ukuran 25ml, 50ml, dan 100ml, pipet ukur ukuran 1ml, 5ml, dan 10ml, cawan petri, kuvet, sumuran ukuran 7 μ m, kertas saring.

3.2.2 Bahan

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan baku utama dan bahan baku tambahan. Bahan baku utama yang digunakan dalam pembuatan cuka buah naga adalah buah naga daging putih (*Hylocereus undatus*) yang dibeli di Pasar Besar Malang, buah naga daging merah (*Hylocereus polhyrizus*) yang di beli di Lai-Lai. Sedangkan bahan baku tambahan yang digunakan adalah gula pasir dengan merk “Gulaku” , aquades, dan diamonium hydrogen fosfat.

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan media aktivasi adalah glukosa (RRC/China) dan etanol 96% P.A (RRC/China), pepton (Pronadisa), *yeast extract* (Oxoid), media PDA (*Potato Dextrose Agar*) (Himedia), NA (*Nutrient Agar*) (Pronadisa), dan $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck-german). Bahan – bahan yang digunakan untuk keperluan analisa antara lain media PDA (Himedia), NA (Pronadisa), reagen anthrone (Sigma-Aldrick), asam sulfat (RRC/China), Na_2CO_3 (Smartlab), KMnO_4 0,1N (RRC/China), aquades, alkohol 70 % (RRC/China), buffer pH 4 dan 7 (Merck-german), kain saring kasar dan halus, dan Folin Ciocalteu (Merck-german), asam galat, NaOH 0,1N P.A (Merck-german), indikator PP (Merck-german). Mikroba yang digunakan untuk fermentasi alkohol adalah Ragi Fermipan (*Saccharomyces cereviceae*) yang dibeli di Lai-Lai, untuk fermentasi asam asetat digunakan *Acetobacter pasteurianus* IFO 3283, yang didapat dari Pusat Pangan dan Gizi, Divisi *Food and Nutrition Culture Collection*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Bahan-bahan yang digunakan untuk Pengujian aktivitas antibakteri meliputi mikroorganisme yang digunakan sebagai bakteri indikator seperti, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Serta media pertumbuhan “*Nutrient Broth*” (Pronadisa) dan “*Nutrient Agar*” (Pronadisa).

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak lengkap (RAL) Faktorial dengan 2 faktor yaitu varietas buah naga dan lama fermentasi dengan masing-masing faktor terdiri dari 4 dan 2 level. Faktor tersebut adalah:

Faktor I : Varietas buah naga (A)

A1= Buah naga putih

A2= Buah naga merah

Faktor II : Lama Fermentasi (B)

B1= Lama fermentasi 7 hari

B2= Lama fermentasi 14 hari

B3= Lama fermentasi 21 hari

B4= Lama fermentasi 28 hari

Dari kedua faktor diatas, diperoleh 8 kombinasi

A1B1	A1B2	A1B3	A1B4
A2B1	A2B2	A2B3	A2B4

Keterangan Kombinasi perlakuan adalah sebagai berikut :

A1B1 : Buah naga putih ; Lama fermentasi 7 hari

A1B2 : Buah naga putih ; Lama fermentasi 14 hari

A1B3 : Buah naga putih ; Lama fermentasi 21 hari

A1B4 : Buah naga putih ; Lama fermentasi 28 hari

A2B1 : Buah naga merah ; Lama fermentasi 7 hari

A2B2 : Buah naga merah ; Lama fermentasi 14 hari

A2B3 : Buah naga merah ; Lama fermentasi 21 hari

A2B4 : Buah naga merah ; Lama fermentasi 28 hari

Setiap kombinasi diulang sebanyak 3 kali sehingga didapat 24 kali percobaan

3.3.2 Proses pembuatan Cuka Buah Naga

A. Pembuatan Starter Ragi/*Seed Fermentation* (Modifikasi Rianto, 2004)

Menurut Stellman (1998), proses *seed fermentation* dimaksudkan untuk mengoptimalkan pertumbuhan inokulum. Dan pada tahap ini sel akan dapat beradaptasi terhadap lingkungan dan nutrisi yang akan dihadapi pada tahap fermentasi utama (Knut, 2006). Kurva pertumbuhan bakteri diawali dengan fase lag (fase adaptasi), kemudian fase log (fase dimana pertumbuhan bakteri terjadi secara maksimal), Fase stasioner dan fase kematian. Dengan adanya tahap *seed fermentation*, fase lag yeast akan lebih singkat karena telah beradaptasi terlebih dahulu dalam medium yang sama.

Tahapan pembuatan starter ragi:

- Buah naga daging merah dan buah naga daging putih dibuat menjadi sari buah dengan perbandingan buah naga : air = 1 : 2 kemudian ditambahkan gula 5% (b/v), Diamonium Hidrogen Fosfat (DHF) 0,2% (b/v) dan Na-bisulfit 200 mg/L dan dipasterurisasi dengan suhu 65°C selama 15 menit kemudian didinginkan sampai mencapai suhu 35°C.
- Ragi roti instan merk "Fermipan" ditambahkan ke sari buah di atas sebanyak 0,8% (b/v) secara aseptis.
- Ragi diinkubasi dalam inkubator jamur pada suhu 37°C selama 5 jam

- Starter ragi ditambahkan ke dalam sari buah naga yang telah dipasteurisasi sebanyak 10% (v/v) secara aseptis, dikocok 1 menit, kemudian dihitung total yeast dengan menggunakan metode TPC.

B. Pembuatan Inokulum *Acetobacter Pasteurianus* (Modifikasi Trisnawati,2005)

1. Pembuatan Media Cair PGYB (*Pepton Glucose Yeast Extrac Broth*) dan Media PGYA (*Pepton Glucose Yeast Extrac Agar*)

- Bahan-bahan yang digunakan berupa media PGYA dan PGYB. PGYA dibuat dengan komposisi pepton 5g/L, yeast extract 5g/L, glukosa 5g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1g/L, dan agar 15g/L. Dan PGYB dibuat dengan komposisi pepton 5g/L, yeast extract 5g/L, glukosa 5g/L, dan $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1g/L.
- Media yang telah dibuat dalam erlenmayer dipanaskan di atas kompor listrik sampai larut, ditutup dengan kapas dan kertas coklat/koran, kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.
- Untuk agar miring setelah disterilisasi dibiarkan dingin sampai membentuk agar miring.

2. Peremajaan *Acetobacter Pasteurianus*

- *Acetobacter pasteurianus* yang terdapat didalam selongsong kaca di buka secara aseptis di ruang LAF
- Kemudian ampul *Acetobacter pasteurianus* dihidrasi menggunakan media PGYB 10ml dan di vortex
- Diambil *Acetobacter pasteurianus* yang telah dihidrasi sebanyak 0,1ml dan di plating dalam cawan petri yang telah berisi PGYA padat, dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C selama 4 hari
- Setelah 4 hari diambil satu koloni dari cawan petri kemudian diinokulasikan pada media PGYA miring, dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 2 hari.
- Setelah 2 hari diinkubasi biakan murni *Acetobacter pasteurianus* dalam PGYA miring disimpan dalam lemari es suhu 4°C dan dapat digunakan sebagai stock kultur

3. Inokulasi *Acetobacter Pasteurianus*

- Biakan murni *Acetobacter pasteurianus* diinokulasikan pada PGYA miring dengan menggunakan jarum ose dalam *Laminar Air Flow* (LAF) membentuk garis zig-zag dan diinkubasi selama 48 jam pada inkubator suhu 30°C.

- Biakan murni *Acetobacter pasteurianus* yang berumur 48 jam sebanyak 2 ose diinokulasikan dalam 10 ml media cair aktivasi (PGYB) secara aseptis kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C
- 10 ml kultur *Acetobacter pasteurianus* dalam media cair aktivasi tersebut (PGYB) dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi 90 ml media cair aktivasi secara aseptis, diinkubasi selama 48 jam pada inkubator suhu 30°C
- Kultur tersebut kemudian diinokulasikan sebanyak 40 ml ke dalam 1 liter erlenmayer yang berisi 360 ml media cair aktivasi (PGYB) yang telah dicampur etanol 2%(v/v) penambahan etanol dilakukan setelah media selesai di sterilisasi, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada inkubator suhu 30°C dan digunakan sebagai inokulum. Total Inokulum *Acetobacter pasteurianus* dihitung dengan menggunakan metode TPC.

C. Tahap Fermentasi Alkohol (Modifikasi Rianto, 2004)

- Buah naga daging merah/daging putih dipisahkan dengan kulitnya dan ditimbang
- Buah naga yang telah ditimbang dimasukkan *juicer*, kemudian sari buah yang didapat dicampur dengan air dengan perbandingan 1 : 2 (b/v)
- Ditambahkan sukrosa 12,5% (b/v), Diamonium Hidrogen Fosfat (DHF) 0,2% (b/v) dan Na-bisulfit 200 mg/L
- Sari buah dipasteurisasi di atas kompor listrik pada suhu 65°C selama 15 menit untuk mematikan mikroba awal, kemudian dimasukkan kedalam botol fermentor dan didinginkan hingga suhu 27-30°C untuk mengkondisikan medium bagi yeast
- Ditambahkan starter ragi sebanyak 20% (v/v) dan dilakukan fermentasi pada suhu kamar selama 9 hari dalam kondisi anaerob sehingga dihasilkan alkohol.
- Sari buah naga daging merah/ daging putih setelah difermentasi selama 9 hari dianalisa kadar alkoholnya
- Sari salak/apel beralkohol dipasteurisasi dalam panci pada suhu 65°C selama 15 menit untuk mematikan ragi roti yang terdapat di dalamnya.

D. Tahap Fermentasi Asam Asetat (Modifikasi Rianto, 2004)

- Ditambahkan inokulum *Acetobacter pasteurianus* sebanyak 15% (v/v) dan difermentasi selama 28 haripada suhu kamar dalam kondisi aerob dengan kecepatan aerasi 0,07 vvm. Penentuan aerasi dilakukan dengan menghitung volume udara persatuan waktu untuk volume larutan pada medium yang di fermentasi (Hidayat dkk, 1997). Pada kecepatan aerasi 0,07 vvm berarti untuk

volume medium fermentasi 563,5 ml maka dalam waktu 1 menit volume udara yang dialirkan sebesar 39,4 ml

- Sampel cuka diambil setiap 7 hari hingga hari ke 28
- Cuka salak dan apel yang dihasilkan dianalisa pH, total asam, Total Padatan Terlarut (TPT), total gula, total fenol dan antioksidan.

3.3.3 Analisa

Pengujian yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi pengujian starter dengan menghitung jumlah mikroba dengan metode *Drop Plate (Surface/Spread Plate* modifikasi) (Fardiaz, 1992), pengujian sari buah naga daging merah/daging putih, pengujian sari buah naga daging merah/daging putih beralkohol, dan pengujian cuka buah naga daging merah/daging putih.

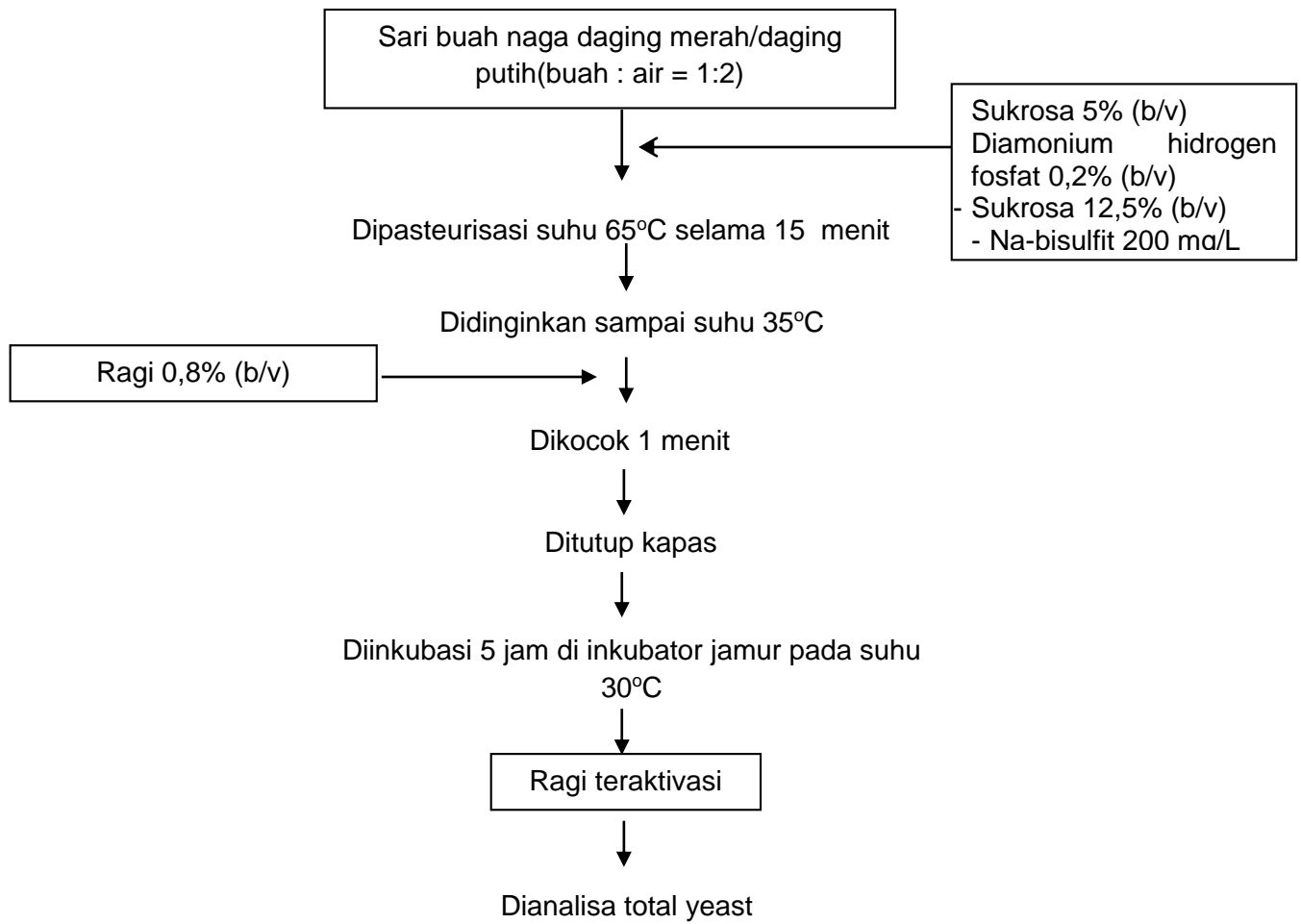
Pengujian sari buah naga , sari buah naga beralkohol dan cuka buah naga daging merah/daging putih meliputi:

- pH, metode “Potentiometric”, menggunakan pH meter (Apriyantono, 1989)
- Total Asam, metode “Titrimetic” (titrasi) (Sudarmadji, 1997)
- Total Padatan Terlarut (TPT) menggunakan alat hand refraktometer (AOAC, 1995)
- Total Gula, metode “Anthrone” (Apriyantono, 1989)
- Total Fenol, metode Folin Ciocelteau (modifikasi Yang, *et al.* 2006)
- Aktivitas Antibakteri, metode Sumuran (modifikasi Wolf and Gibbon, 1996).

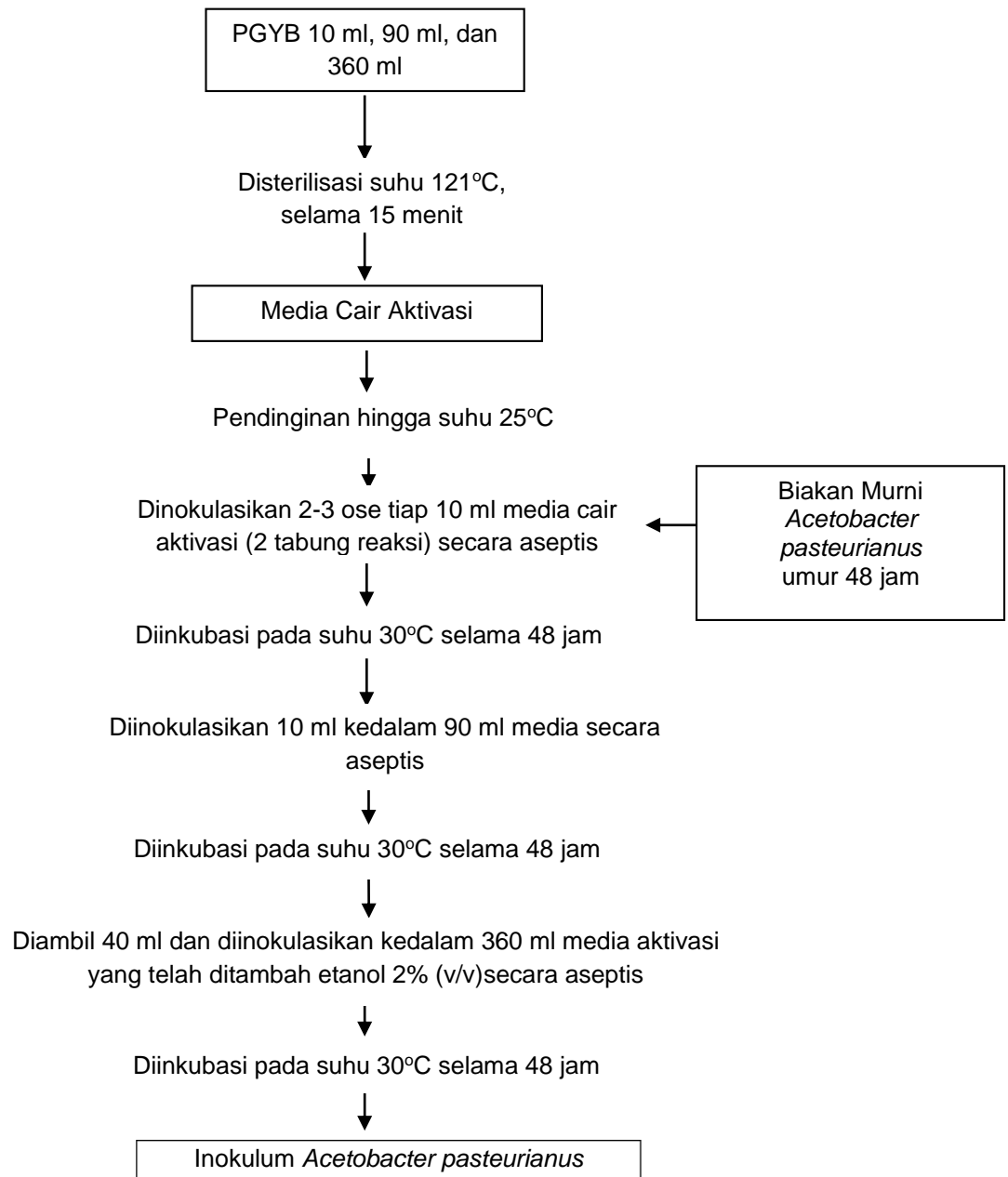
3.3.4 Analisa data

Data hasil pengamatan dianalisa dengan menggunakan analisa ragam (ANOVA). Apabila hasil uji menunjukkan adanya beda nyata dilakukan uji lanjut dengan BNT (Beda Nyata Terkecil) 5%. Pemilihan perlakuan terbaik menggunakan metode *Multiple Attribute* (Zeleny, 1982).

3.3.5 Diagram Alir

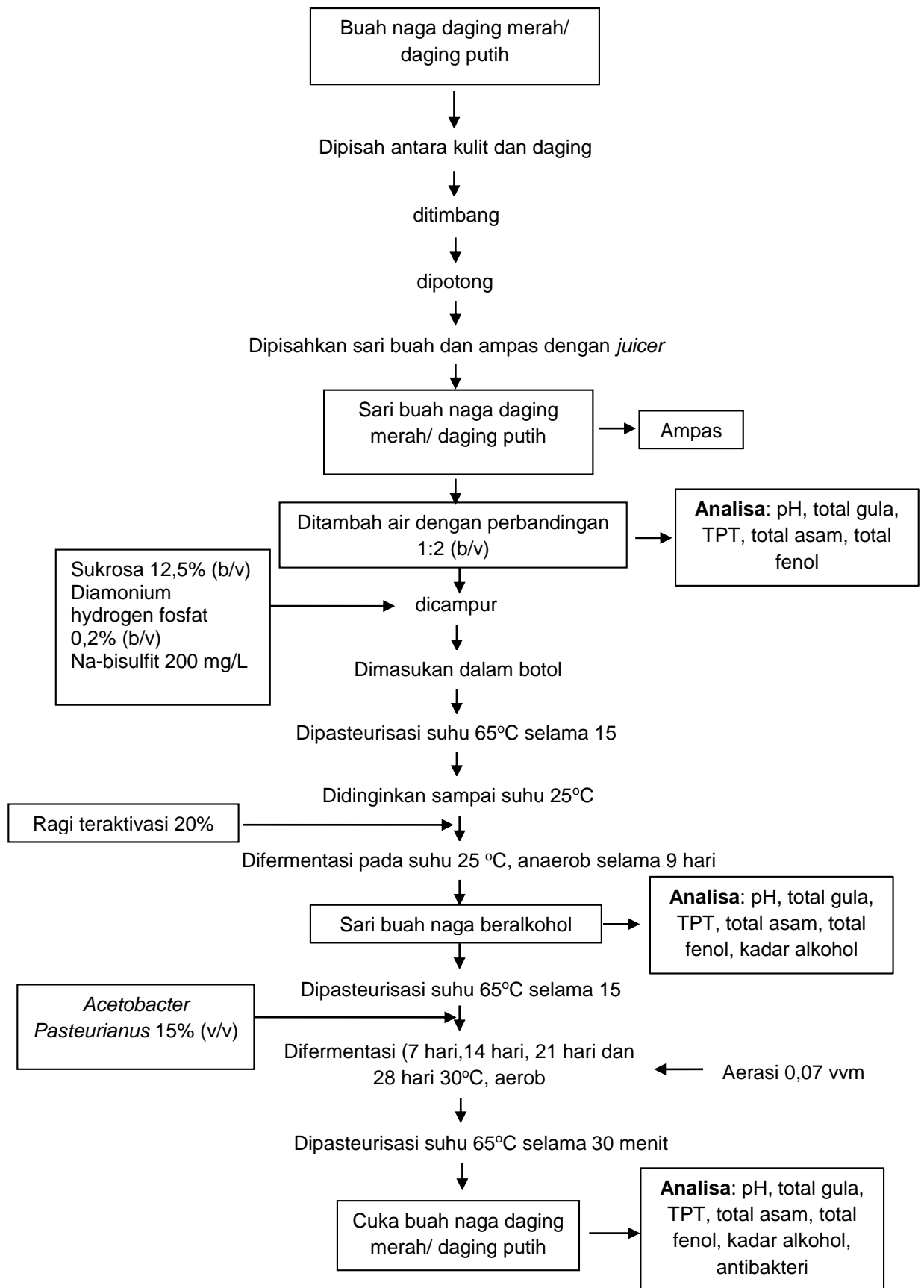


Gambar 3.1 Diagram Alir Pembuatan Starter Ragi (Modifikasi Rianto, 2004)

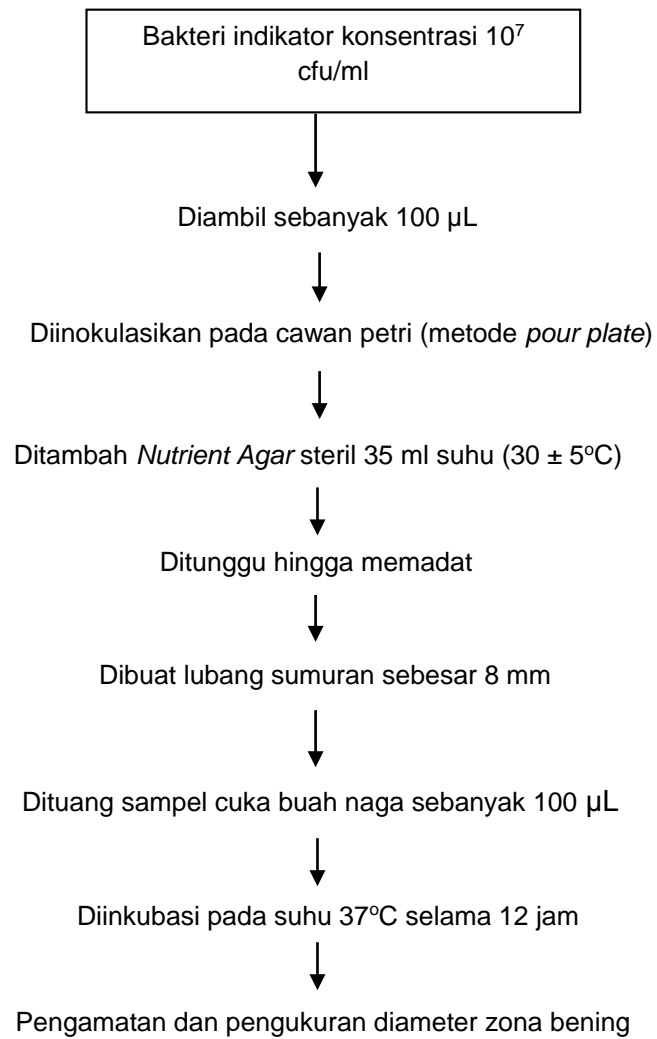


Gambar 3.2 Diagram Alir Pembuatan Inokulum *Acetobacter pasteurianus*

(Modifikasi Trisnawati,2005)



Gambar 3.3 Diagram Alir Pembuatan Cuka Buah Naga (Modifikasi Rianto, 2004)



Gambar 3.4 Diagram Alir Pengujian Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri Indikator (Modifikasi Wolf and Gibbon, 1996)

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Sari Buah Naga Pasteurisasi

Proses pasteurisasi sari buah dilakukan sebelum sari buah digunakan dalam fermentasi alkohol. Pasteurisasi dilakukan untuk mengurangi jumlah mikroba pembusuk awal yang terdapat pada sari buah, sebelum sari buah tersebut digunakan sebagai bahan baku fermentasi alkohol.

Bahan baku yang digunakan merupakan sari buah naga yang terbuat dari buah naga dan air dengan perbandingan 1:2. Dengan adanya penambahan air maka kandungan kimia sari buah naga diduga akan berubah, sehingga perlu dilakukan analisa kimia terlebih dahulu. Analisa yang dilakukan meliputi analisa pH, total asam, Total padatan terlarut (TPT), Total Gula, dan total fenol. Hasil analisa kimia sari buah naga dapat dilihat pada **Tabel 4.1**

Tabel 4.1 Rerata Hasil Analisa Kimia Sari Buah Naga Pasteurisasi

Parameter	Buah Naga Merah		Buah Naga Putih	
	Analisa	Literatur	Analisa	Literatur
pH	5,02	4,30 - 4,70 ^d	4,67	4,40 - 4,68 ^a
Total Asam (%)	0,26	0,19 - 0,33 ^b	0,37	0,32 - 0,49 ^b
Total Padatan Terlarut (° Brix)	6,80	13,00 - 15,00 ^c	2,50	10,00 – 13,00 ^c
Total Gula Sebelum Penambahan Gula (%)	4,84	-	1,40	-
Total Gula Setelah Penambahan Gula (%)	16,84	-	13,67	-
Fenol (µg/ml) GAE	116,25	1075 ± 71,70 ^{e*}	96,62	523,40 ± 33,60 ^{e*}

Keterangan : * Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah methanol

Sumber : ^a Ahmed *et al.*, 2002

^b Chang, 2014

^c Kristanto, 2008

^d Rufino *et al.*, 2007

^e Mahattanatawee *et al.*, 2006

pH sari buah naga dari hasil analisa (Tabel 4.1), diketahui bahwa buah naga merah memiliki pH lebih tinggi (5,02) dibandingkan pH buah naga putih (4,67), pada kondisi pH tersebut *Saccharomyces cerevisiae* masih mampu menghasilkan alkohol. pH merupakan salah satu faktor penting yang perlu diperhatikan pada saat proses fermentasi, pH mempengaruhi pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*. pH optimum pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* adalah pH 4 - 6 tergantung dari suhu, oksigen dan *strain* (Nerendranath and Ronan, 2005). Suhu yang digunakan dalam fermentasi alkohol adalah 25°C dalam kondisi anaerob. Hasil analisa pH sari buah naga daging putih 4,67 sesuai dengan hasil literatur yang menyebutkan bahwa pH buah naga putih berkisar antara 4,40 - 4,68 (Ahmed *et al.*, 2002). Namun pH hasil analisa sari buah naga daging merah (pH 5,02) tidak sesuai dengan literatur, dimana menurut Rufino *et al.*, (2007) pH buah naga merah berkisar antara 4,3 – 4,7. Namun menurut Cardoso and Brunini (2011), penyimpanan buah naga pada suhu 13°C selama 25 hari dapat meningkatkan pH dari 4,60 menjadi 5,8 dan hasil tersebut sesuai dengan hasil analisa pada penelitian ini. Buah naga merah pada penelitian ini dibeli dipasar tradisional, sehingga diduga pH buah naga telah meningkat ketika digunakan sebagai bahan baku.

Pada analisa total asam (Tabel 4.1), sari buah naga daging merah memiliki total asam yang lebih rendah (0,26%) dibandingkan total asam buah naga daging putih (0,37%). Keasaman buah berbeda karena dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya adalah kandungan asam organik yang dimiliki buah. Asam organik yang terdapat dalam buah naga adalah asam malat, asam sitrat (Castro *et al.*, 2014), asam oxalat, asam suksinat dan asam fumarat (Jamilah, 2011). Hasil analisa total asam sari buah naga daging putih (0,37%) sesuai dengan hasil literatur yang menyebutkan bahwa total asam buah naga daging putih berkisar antara 0,32% – 0,49% (Chang, 2014). Hasil analisa total asam sari buah naga daging merah (0,26%) juga sesuai dengan hasil literatur yang menyebutkan bahwa total asam buah naga daging putih berkisar antara 0,19% – 0,33% (Chang, 2014).

Pada analisa total padatan terlarut (TPT) (Tabel 4.1), sari buah naga daging merah memiliki nilai TPT yang paling tinggi yaitu sebesar 6,8° Brix sedangkan sari buah naga daging putih hanya sekitar 2,5° Brix. Nilai TPT yang tinggi pada sari buah naga daging merah diduga karena buah naga daging merah memiliki kandungan gula yang tinggi. Gula merupakan padatan terlarut yang paling

banyak dalam sari buah. Selain gula, padatan terlarut yang ada dalam sari buah adalah asam organik, asam amino dan pektin larut air (Garner *et al.*, 2006). Hasil analisa total padatan terlarut (TPT) untuk buah naga daging merah maupun putih tidak sesuai dengan hasil analisa literatur. Dari literatur diketahui bahwa buah naga daging merah memiliki nilai TPT sebesar 13 - 15°Brix dan buah naga daging putih sebesar 10 - 13°Brix (Kristanto, 2008). Perbedaan tersebut diduga dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan tingkat kematangan buah. Menurut Pantastico (1989) komposisi kimiawi bahan pangan dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan antara lain : suhu, salinitas, cahaya, penanaman pada tingkat kedalaman dan lahan yang berbeda dapat memberikan perbedaan pada komposisi kimiawi setiap bahan pangan.

Dari Tabel 4.1 diketahui bahwa total gula buah naga daging putih (1,4%) dan total gula buah naga daging merah (4,84%) masih rendah bila digunakan dalam fermentasi alkohol. Oleh karena itu perlu adanya penambahan gula (sukrosa) sampai kebutuhan gula tercukupi untuk pembentukan alkohol. Menurut Daulay dan Rahman (1992), bahan baku pembuatan cuka dari sari buah perlu dipekatkan terlebih dahulu atau ditambahkan gula (sukrosa) sampai kandungan gulanya mencapai 10 – 25% (b/v) atau 10 - 15% (b/v) (Wood,1998). Sehingga dalam penelitian ini ditambahkan gula sebanyak 12,5% (b/v) kedalam sari buah naga untuk mencukupi pembentukan alkohol. Setelah ditambah gula 12,5% (b/v) total gula sari buah naga daging merah adalah 16,84 % dan total gula sari buah naga daging putih adalah 13.67 %.

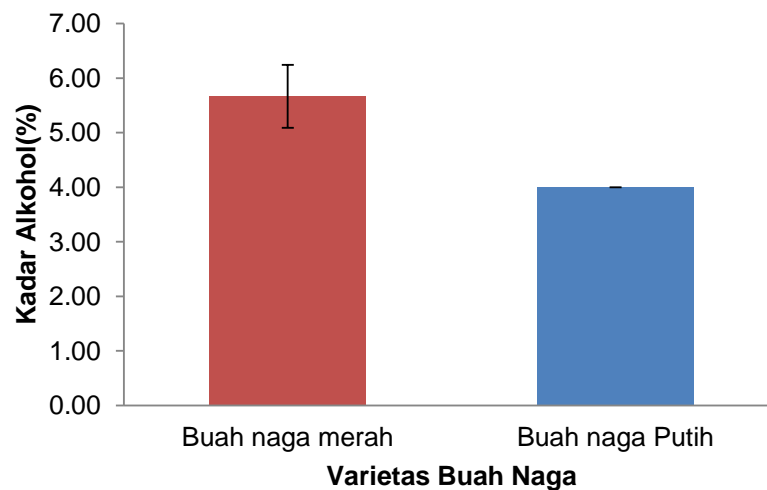
Pada analisa total fenol (Tabel 4.1), sari buah naga daging merah memiliki total fenol paling tinggi yaitu 116,25 µg/ml, sedangkan sari buah naga daging putih hanya sebesar 96,62 µg/ml. Total fenol buah naga merah lebih tinggi daripada buah naga putih diduga karena buah naga merah memiliki senyawa fenol yang tidak dimiliki buah naga putih. Senyawa fenol yang terdapat pada buah naga daging merah adalah betalain, betasianin, dan asam galat (Jamilah,2011). Namun hasil analisa total fenol tersebut tidak sesuai dengan literatur yang didapat. Menurut Mahattanatawee *et al.*, (2006) total fenol buah naga daging putih sebesar 523,4 ± 33,6 µg/ml GAE sedangkan buah naga daging merah 1075,8 ± 71,7 µg/ml GAE. Perbedaan hasil analisa diduga karena metode preparasi yang berbeda. Pada penelitian Mahattanatawee *et al.*, (2006) buah diekstrak menggunakan methanol 100% dan dipekatkan dalam kondisi vakum sehingga total fenol yang didapat sangat tinggi. Selain itu faktor

lingkungan dan tingkat kematangan buah diduga juga mempengaruhi total fenol buah naga.

4.2 Sari Buah Naga Fermentasi Alkohol

4.2.1 Kadar Alkohol Sari Buah Naga Beralkohol

Rerata kadar alkohol sari buah naga hasil fermentasi alkohol buah naga putih adalah 4% sedangkan rerata kadar alkohol buah naga merah adalah 5,67%. Rerata kadar alkohol sari buah hasil fermentasi alkohol akibat perlakuan varietas buah naga dapat dilihat pada **Gambar 4.1**



Gambar 4.1 Grafik Rerata Kadar Alkohol pada Sari Buah Naga Beralkohol

Gambar 4.1 menunjukkan bahwa rerata kadar alkohol sari buah tertinggi terdapat pada perlakuan varietas buah naga merah dan terendah pada perlakuan varietas buah naga putih. Hasil analisa ragam (ANOVA) pada Lampiran 2 menunjukkan bahwa perlakuan varietas buah naga memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap kadar alkohol pada sari buah naga beralkohol. Rerata kadar alkohol akibat pengaruh varietas buah naga disajikan pada **Tabel 4.2**.

Tabel 4.2 Rerata Kadar Alkohol Akibat Pengaruh Varietas Buah Naga pada Sari Buah Naga Beralkohol

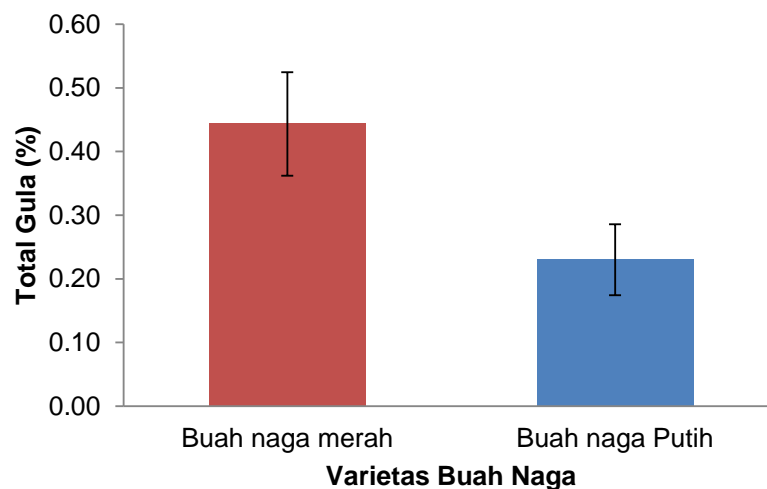
Varietas Buah Naga	Kadar Alkohol (%)	BNT
Buah Naga Daging Merah	5,67 ^b	0,93
Buah Naga Daging Putih	4,00 ^a	

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa kadar alkohol terendah pada perlakuan varietas buah naga putih yaitu 4% dan kadar alkohol tertinggi pada perlakuan varietas buah naga merah yaitu 5,67%. Alkohol terbentuk akibat pemecahan gula oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Menurut Judoamidjojo *et al.*, (1992), *Saccharomyces cerevisiae* dapat mengkonversi gula menjadi etanol karena adanya enzim invertase dan zimase. Enzim invertase akan menghidrolisis disakarida menjadi monosakarida. Sedangkan enzim zimase akan mengubah monosakarida menjadi alkohol dan CO₂.

Dari Tabel 4.2 juga diketahui bahwa buah naga daging merah memiliki kadar alkohol yang lebih tinggi dibandingkan buah naga daging putih. Buah naga merah menghasilkan kadar alkohol yang lebih tinggi diduga karena buah naga daging merah memiliki kandungan gula yang lebih tinggi. Hal tersebut juga sesuai dengan hasil analisa kandungan total gula sari buah naga pada Lampiran 2 dimana sari buah naga daging merah memiliki kandungan gula yang tinggi sebesar 16,835% (setelah ditambah gula 12%). Gula dalam fermentasi alkohol akan diubah menjadi alkohol oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Semakin tinggi kandungan gula yang ada dalam medium fermentasi maka akan semakin tinggi pula kadar alkohol yang dihasilkan. Salah satu komponen penting dalam fermentasi alkohol adalah menjamin bahwa *yeast* mendapatkan kecukupan nutrisi untuk membantu toleransi *yeast* terhadap etanol dan kenaikan suhu fermentasi dan menjaga laju fermentasi agar tetap optimum (Bisson, 2001). Oleh karena itu kandungan alkohol sari alkohol buah naga daging merah lebih tinggi dibandingkan buah naga daging putih.

4.2.2 Total Gula Sari Buah Naga Beralkohol

Rerata total gula sari buah naga hasil fermentasi alkohol buah naga putih adalah 0,23% sedangkan rerata total gula buah naga merah adalah 0,44%. Rerata total gula sari buah hasil fermentasi alkohol akibat perlakuan varietas buah naga dapat dilihat pada **Gambar 4.2**



Gambar 4.2 Grafik Total Gula pada Sari Buah Naga Beralkohol

Gambar 4.2 menunjukkan bahwa total gula sari buah beralkohol pada buah naga daging merah lebih tinggi dibandingkan buah naga daging putih. Hasil analisa ragam (ANOVA) pada Lampiran 3 menunjukkan bahwa perlakuan varietas buah naga memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap total gula pada sari buah naga beralkohol. Rerata total gula sari buah naga beralkohol akibat pengaruh varietas buah naga disajikan pada **Tabel 4.3**

Tabel 4.3 Rerata Total Gula Setelah Fermentasi Alkohol pada Dua Varietas Buah Naga yang Berbeda

Varietas Buah Naga	Total Gula %	BNT (5%)
Buah Naga Daging Merah	0,44 ^b	0,16
Buah Naga Daging Putih	0,23 ^a	

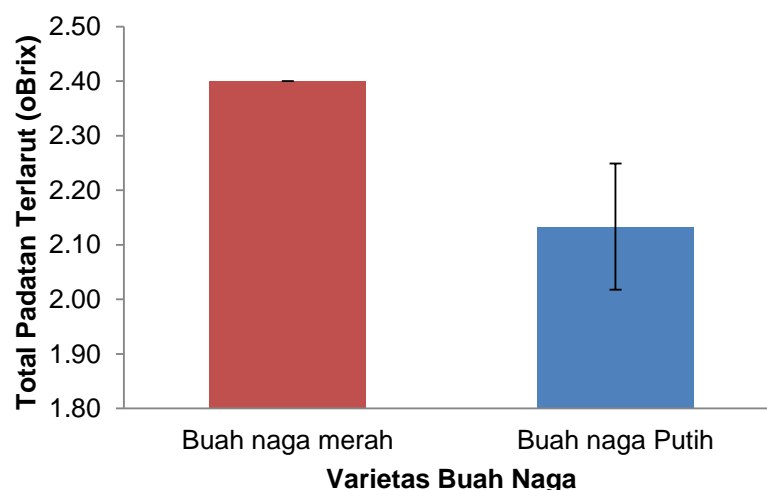
Pada Tabel 4.3 diketahui bahwa total gula buah naga merah sebesar 0,44% dan buah naga putih sebesar 0,23%, nilai tersebut menurun dibandingkan total gula awal sebelum fermentasi (Sari buah pasteurisasi) dimana buah naga merah memiliki total gula sebesar 16,63% dan buah naga putih sebesar 13,75%. Penurunan total gula disebabkan oleh pemecahan gula seperti sukrosa dan glukosa menjadi senyawa yang lebih sederhana, yang dilakukan oleh *Saccharomyces cerevisiae* dalam usahanya memperoleh energi untuk pertumbuhan dan aktivitasnya. Nutrient yang paling dibutuhkan oleh mikroba adalah sumber karbon. Sumber karbon berfungsi sebagai penghasil energi bagi mikroba, sedangkan nutrient lain dibutuhkan dalam jumlah sedikit. Sumber karbon yang digunakan dalam penelitian ini adalah fruktosa dan glukosa yang

berasal dari buah naga dan sukrosa. Gula - gula tersebut kemudian akan dikonversi menjadi etanol oleh bantuan *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* dapat mengkonversi gula menjadi etanol karena adanya enzim invertase dan zimase. Enzim invertase akan menghidrolisis disakarida menjadi monosakarida. Sedangkan enzim zimase akan mengubah monosakarida menjadi alkohol dan CO₂ (Judoamidjojo *et al*, 1992). Selain itu menurut Ali (2008), konsumsi glukosa oleh *S.cerevisiae* akan mengakibatkan menurunnya kadar total gula pada akhir fermentasi.

Dari Tabel 4.3 juga menunjukkan bahwa rerata total gula tertinggi pada sari buah hasil fermentasi alkohol didapatkan pada perlakuan varietas buah naga merah dengan nilai 0,44% dan rerata total gula terendah didapatkan pada perlakuan varietas buah naga putih dengan nilai 0,23%. Hal ini diduga karena total gula awal sari buah naga daging putih lebih rendah dibandingkan total gula awal buah naga daging merah. Menurut Ariyanto *et al.*, (2013), dengan meningkatkan konsentrasi gula awal konsentrasi gula sisa juga akan meningkat, hal ini dikarenakan laju fermentasi menjadi lebih lambat ketika fermentasi menggunakan konsentrasi gula awal tinggi. Charoenchai *et al.*, (1998), melaporkan bahwa *S.cerevisiae* menimbulkan penurunan laju pertumbuhan biomassa pada konsentrasi gula awal yang tinggi dan Attri (2009), menyatakan pengurangan laju fermentasi terjadi ketika penambahan konsentrasi gula awal saat proses pembuatan wine jambu monyet. Strehaino (1983), juga meneliti tentang tingginya konsentrasi gula awal dapat menghambat laju pertumbuhan *S.cerevisiae* selama fermentasi gula pada suhu 30°C.

4.2.3 Total Padatan Terlarut Sari Buah Naga Beralkohol

Rerata total padatan terlarut (TPT) sari buah naga hasil fermentasi alkohol buah naga putih adalah 2,13°Brix sedangkan rerata total gula buah naga merah adalah 2,40°Brix. Rerata total padatan terlarut (TPT) sari buah hasil fermentasi alkohol akibat perlakuan varietas buah naga dapat dilihat pada **Gambar 4.3**



Gambar 4.3 Grafik Total Padatan Terlarut (TPT) pada Sari Buah Naga Beralkohol

Gambar 4.3 menunjukkan bahwa total padatan terlarut (TPT) sari buah beralkohol pada buah naga daging merah lebih tinggi dibandingkan buah naga daging putih. Hasil analisa ragam pada Lampiran 3 menunjukkan bahwa perlakuan varietas buah naga memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap total padatan terlarut sari buah naga beralkohol. Rerata total padatan terlarut (TPT) sari buah naga beralkohol akibat pengaruh varietas buah naga disajikan pada **Tabel 4.4**

Tabel 4.4 Rerata Nilai TPT Setelah Fermentasi Alkohol pada Dua Varietas Buah Naga yang Berbeda

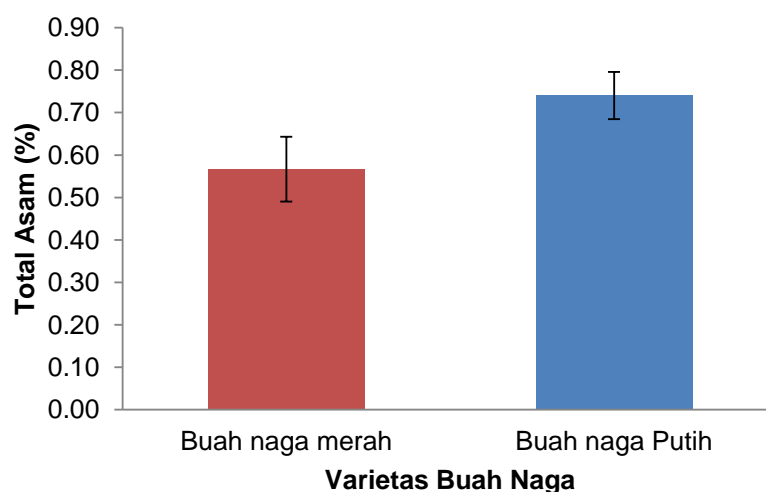
Varietas Buah Naga	TPT (°Brix)	BNT (5%)
Buah Naga Daging Merah	2,40 ^b	0,19
Buah Naga Daging Putih	2,13 ^a	

Pada Tabel 4.4 diketahui bahwa rerata total padatan terlarut (TPT) buah naga merah sebesar 2,40°Brix dan buah naga putih sebesar 2,13°Brix, nilai tersebut menurun dibandingkan nilai TPT awal sebelum dilakukan fermentasi, dimana sari buah naga merah memiliki total padatan terlarut sebesar 6,8 sedangkan buah naga putih sebesar 2,5. Selain itu dari tabel 4.4 diketahui bahwa rerata total padatan terlarut (TPT) tertinggi didapatkan pada perlakuan buah naga merah dan TPT terendah pada buah naga putih.

Nilai TPT dan total gula pada sari saling berkaitan, hal tersebut sesuai dengan literatur yang menyebutkan bahwa gula merupakan padatan terlarut yang paling banyak dalam sari buah (Garner *et al.*, 2006). Selain gula, padatan terlarut yang ada dalam sari buah adalah asam organik, asam amino dan pektin larut air. Sehingga penurunan total padatan terlarut selama fermentasi diduga karena gula yang merupakan padatan terlarut terbanyak dalam medium dimetabolisme oleh yeast menjadi alkohol dan CO₂. Sehingga diduga nilai TPT total gula daging putih yang lebih rendah daripada nilai TPT buah naga daging merah dikarenakan total gula buah naga merah setelah fermentasi lebih tinggi dibandingkan total gula buah naga putih (Tabel 4.3).

4.2.3 Total Asam Sari Buah Naga Beralkohol

Rerata total asam pada sari buah naga beralkohol berkisar antara 0,57% - 0,74% Lampiran 3. Perubahan total asam pada varietas buah naga ditunjukkan pada **Gambar 4.4**



Gambar 4.4 Grafik Total Asam pada Sari Buah Naga Beralkohol

Gambar 4.2 menunjukkan bahwa total asam pada perlakuan varietas buah naga merah lebih rendah daripada perlakuan varietas buah naga putih. Hasil analisa ragam pada Lampiran 3 menunjukkan bahwa perlakuan varietas buah naga memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap total asam pada sari buah naga beralkohol. Rerata total asam akibat pengaruh varietas buah naga disajikan pada **Tabel 4.5**.

Tabel 4.5 Rerata Nilai Total Asam Setelah Fermentasi Alkohol pada Dua Varietas Buah Naga yang Berbeda

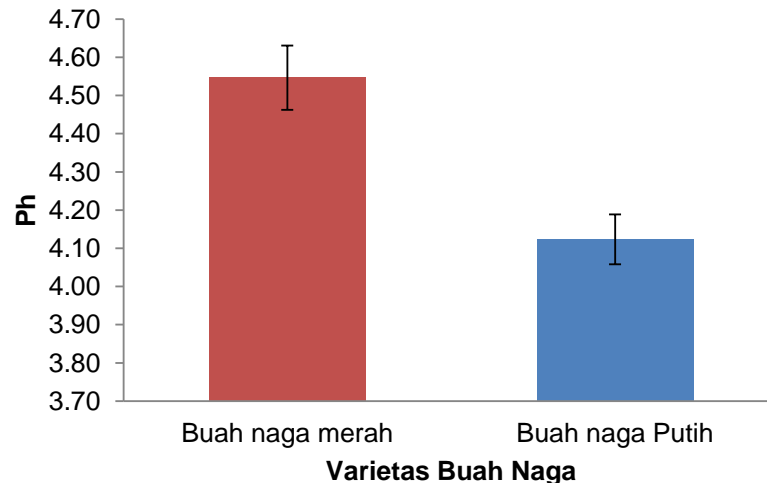
Varietas Buah Naga	Total Asam (%)	BNT (%)
Buah Naga Daging Merah	0,57 ^a	0,15
Buah Naga Daging Putih	0,74 ^b	

Pada Tabel 4.5 diketahui bahwa total asam buah naga merah sebesar 0,57% dan buah naga putih sebesar 0,74%, nilai tersebut meningkat dibandingkan nilai total asam awal sebelum fermentasi dimana sari buah naga merah memiliki total asam sebesar 0,26% sedangkan sari buah naga putih sebesar 0,38%. Peningkatan total asam selama proses fermentasi alkohol terjadi karena selama proses fermentasi terbentuk asam asetat. Hal tersebut didukung oleh Jackson (2014), yang menyatakan asam asetat dan asam suksinat terbentuk sebagai hasil samping fermentasi oleh yeast. Asam yang terbentuk dalam fermentasi alkohol dibagi menjadi dua kategori, yaitu *Fixed Acidity* dan *Volatile Acidity*. *Fixed Acidity* adalah asam yang tidak mudah menguap sedangkan *Volatile Acidity* adalah asam yang mudah menguap oleh distilasi uap dan total asam adalah kombinasi dari kedua kategori tersebut. Contoh dari *Fixed Acidity* adalah asam organik yang dimiliki oleh buah. Menurut Jamilah (2011) asam organik pada buah naga adalah asam oksalat, asam sitrat, asam malat, asam suksinat dan asam fumarat. Selain dari buah sumber *Fixed Acidity* yang lain adalah asam karboksilat dari TCA (tricarboxylic acid) cycle seperti asam sitrat, isositrat, fumarat, dan α -ketoglutarat hasil dari metabolisme yeast.

Tabel 4.5 menunjukkan bahwa rerata nilai total asam terendah pada sari buah beralkohol didapatkan pada perlakuan varietas buah naga daging merah dengan nilai 0,57% dan rerata total asam tertinggi didapatkan pada perlakuan varietas buah naga daging merah dengan nilai 0,74%. Hal ini disebabkan karena dengan konsentrasi gula yang tinggi pada sari buah naga merah maka kadar alkohol yang dihasilkan semakin tinggi. Asam merupakan hasil sampingan dari fermentasi alkohol. Dengan semakin tinggi kadar alkohol maka bakteri pembentuk asam akan semakin terhambat pertumbuhannya sehingga total asam yang dihasilkan semakin rendah (Gunam dan Wrasati, 2009). Selain itu menurut Sa'id (1987), dalam fermentasi alkohol dapat terjadi reaksi antara asam dan alkohol membentuk ester.

4.2.4 pH Sari Buah Naga Beralkohol

Rerata pH pada sari buah naga beralkohol berkisar antara 4,12% - 4,55% Lampiran 2. Perubahan pH pada varietas buah naga ditunjukkan pada **Gambar 4.5**.



Gambar 4.5 Grafik Ph pada Sari Buah Naga Beralkohol

Gambar 4.5 menunjukkan bahwa nilai pH pada perlakuan varietas buah naga putih lebih rendah daripada nilai pH pada perlakuan varietas buah naga merah. Hasil analisa ragam pada Lampiran 3 menunjukkan bahwa perlakuan varietas buah naga memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap nilai pH pada sari buah naga beralkohol. Rerata kadar alkohol akibat pengarih varietas buah naga disajikan pada **Tabel 4.6**.

Tabel 4.6 Rerata Nilai pH Setelah Fermentasi Alkohol pada Dua Varietas Buah Naga yang Berbeda

Varietas Buah Naga	pH	BNT (5%)
Buah Naga Daging Merah	4,55 ^b	0,17
Buah Naga Daging Putih	4,12 ^a	

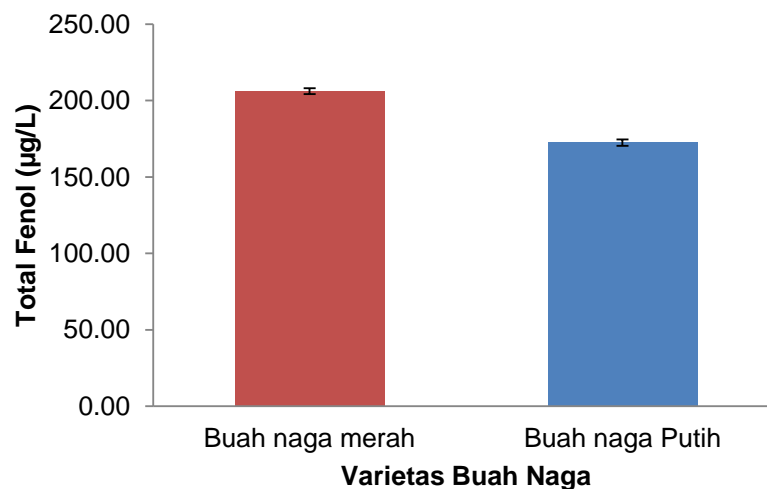
Tabel 4.6 menunjukkan bahwa rerata nilai pH terendah pada sari buah beralkohol didapatkan pada perlakuan varietas buah naga daging putih dengan nilai 4,12 % dan rerata total asam tertinggi didapatkan pada perlakuan varietas buah naga daging merah dengan nilai 4,55%. Hal ini disebabkan karena dengan konsentrasi gula yang tinggi pada sari buah naga merah maka kadar alkohol

yang dihasilkan semakin tinggi. Asam merupakan hasil sampingan dari fermentasi alkohol. Dengan semakin tinggi kadar alkohol maka bakteri pembentuk asam akan semakin terhambat pertumbuhannya sehingga total asam yang dihasilkan semakin rendah (Gunam dan Wrasati, 2009). Selain itu menurut Sa'id (1987), dalam fermentasi alkohol dapat terjadi reaksi antara asam dan alkohol membentuk ester. Sehingga dengan nilai total asam yang rendah pada buah naga merah hasil fermentasi menyebabkan nilai pH buah naga hasil fermentasi meningkat.

Penurunan pH setelah proses fermentasi diduga karena terbentuknya asam-asam organik pada saat proses fermentasi alkohol. Dugaan tersebut didukung oleh literatur dimana menurut Jackson (2014), asam asetat dan asam suksinat terbentuk sebagai hasil samping fermentasi oleh yeast. Ray (1996) menerangkan bahwa pH mengindikasikan konsentrasi ion hidrogen dalam suatu sistem, dan diekspresikan sebagai $-\log[H^+]$. pH memiliki kisaran nilai 0 – 14 dengan pH 7 berarti netral. Konsentrasi $[H^+]$ dalam suatu sistem dapat bervariasi tergantung dari asam apa yang terdapat didalamnya. Asam lemah seperti asetat atau laktat akan terdisosiasi sebagian. Tingkat keasaman berbanding terbalik dengan pH, semakin tinggi tingkat keasaman maka semakin rendah pH dan sebaliknya.

4.2.5 Total Fenol Sari Buah Naga Beralkohol

Rerata total fenol pada sari buah naga beralkohol berkisar antara 172,45 $\mu\text{g/ml}$ – 206,15 $\mu\text{g/ml}$ (Lampiran 3). Perubahan total fenol pada varietas buah naga ditunjukkan pada **Gambar 4.6**.



Gambar 4.6 Grafik Total Fenol pada Sari Buah Naga Beralkohol

Gambar 4.6 menunjukkan bahwa total fenol pada perlakuan varietas buah naga merah lebih tinggi daripada total fenol pada perlakuan varietas buah naga putih. Hasil analisa ragam pada Lampiran 3 menunjukkan bahwa perlakuan varietas buah naga memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha=0,05$) terhadap total fenol sari buah naga beralkohol. Rerata total fenol akibat pengaruh varietas buah naga disajikan pada **Tabel 4.7**.

Tabel 4.7 Rerata Total Fenol Setelah Fermentasi Alkohol pada Dua Varietas Buah Naga yang Berbeda

Varietas Buah Naga	Total Fenol (µg/ml) GAE	BNT (5%)
Buah Naga Daging Merah	206,15 ^b	4,52
Buah Naga Daging Putih	172,45 ^a	

Tabel 4.7 menunjukkan bahwa rerata nilai total fenol terendah pada sari buah beralkohol didapatkan pada perlakuan varietas buah naga daging putih dengan nilai 172,45 µg/ml dan rerata total asam tertinggi didapatkan pada perlakuan varietas buah naga daging merah dengan nilai 206,15 µg/ml perbedaan ini diduga karena buah naga merah memiliki kandungan fenol yang lebih tinggi dari buah naga putih. Ditambahkan oleh Perez *et al.*, (2007) bahwa adanya perbedaan komposisi kimiawi kedua jenis buah tersebut berpengaruh pada warna, keasaman, kadar alkohol dan senyawa fenolik.

Pada Tabel 4.3 diketahui bahwa total fenol buah naga merah beralkohol sebesar 206,15 µg/ml dan buah naga putih beralkohol sebesar 172,45 µg/ml,

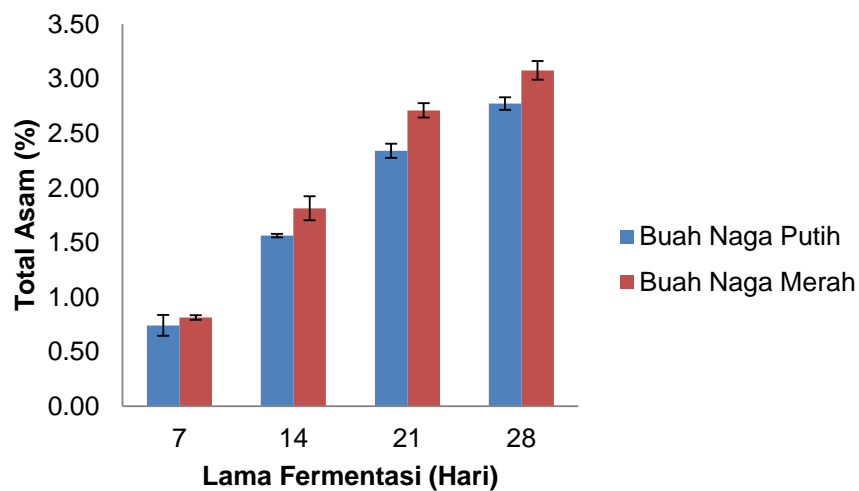
nilai tersebut meningkat dibandingkan total fenol awal sebelum fermentasi, dimana sari buah naga merah memiliki total fenol sebesar 117,38 µg/ml sedangkan sari buah naga putih 97,77 µg/ml. Peningkatan total fenol selama proses fermentasi diduga karena pada fermentasi alkohol yeast dapat menguraikan senyawa kompleks fenol dan adanya alkohol dapat mengekstrak fenol dalam sari buah yang belum terekstrak oleh air. Hal tersebut didukung oleh Gunatilaka (2006) dan Okami (1986) yang menyatakan bahwa ada beberapa enzim yang dimiliki mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk meningkatkan atau mengubah kualitas dan kuantitas senyawa fenolik dalam makanan. Beberapa enzim yang dapat meningkatkan senyawa phenolic adalah α -amilase, β -glukosidase, tannase.

4.3 Cuka Buah Naga

Cuka buah naga merupakan hasil fermentasi asam asetat dari substrat sari alkohol buah naga dengan starter *Acetobacter pasteurianus*. Jumlah mikroba starter yang digunakan dalam penelitian ini adalah $1,1 \times 10^7$ CFU/ml. Pada fermentasi asam asetat *Acetobacter pasteurianus* akan memecah alkohol dari sari alkohol buah naga yang dihasilkan pada tahap sebelumnya menjadi asam asetat. Fermentasi asam asetat dilakukan pada lama fermentasi yang berbeda yaitu 7 hari, 14 hari, 21 hari dan 28 hari. Analisis kimia cuka buah naga dilakukan untuk mengetahui pengaruh varietas buah naga dan lama fermentasi yang berbeda terhadap karakteristik cuka buah naga yang dihasilkan.

4.3.1 Total Asam Cuka Buah Naga

Total asam pada cuka buah dinyatakan dalam asam asetat. Rerata nilai total asam pada cuka buah naga yang dihasilkan berkisar antara 0,74% – 3,08%. Nilai total asam cuka buah naga akibat perlakuan varietas buah naga dan lama fermentasi ditunjukkan pada **Gambar 4.7**



Gambar 4.7 Grafik Rerata Nilai Total Asam Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga dan Lama Fermentasi

Gambar 4.7 menunjukkan bahwa total asam semakin meningkat seiring dengan bertambahnya lama fermentasi asam asetat. Hal ini terjadi pada semua perlakuan varietas buah naga daging merah maupun daging putih dan secara umum nilai total asam cuka buah naga merah lebih tinggi daripada cuka buah naga putih. Hasil analisa ragam (ANOVA) pada Lampiran 5 menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi dan varietas buah naga memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap total asam cuka buah naga. Begitu pula pada interaksi antara lama fermentasi dan varietas buah naga juga memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap total asam cuka buah naga.

Tabel 4.8 Rerata Total Asam Asetat Akibat Pengaruh Varietas Buah Naga dan Lama Fermentasi Asam Asetat pada Cuka Daging Buah Naga

Varietas	Lama Fermentasi Asam Asetat (hari)	Total Asam(%)	DMRT 5%
Buah Naga Merah	7	0,81 ^{ab}	0,13
	14	1,81 ^d	0,14
	21	2,71 ^f	0,14
	28	2,77 ^{fg}	0,14
Buah Naga Putih	7	0,74 ^a	0,12
	14	1,56 ^c	0,13
	21	2,34 ^e	0,14
	28	3,08 ^h	-

Tabel 4.8 menunjukkan bahwa cuka buah naga merah dengan lama fermentasi 28 hari memiliki total asam yang paling tinggi sebesar 3,08% dan cuka buah naga putih dengan lama fermentasi 7 hari memiliki total asam yang

paling rendah sebesar 0,74%. Cuka buah naga merah 28 hari memiliki total asam yang paling tinggi diduga karena sari alkohol buah naga merah memiliki kadar alkohol yang lebih tinggi dibandingkan sari alkohol buah naga putih.

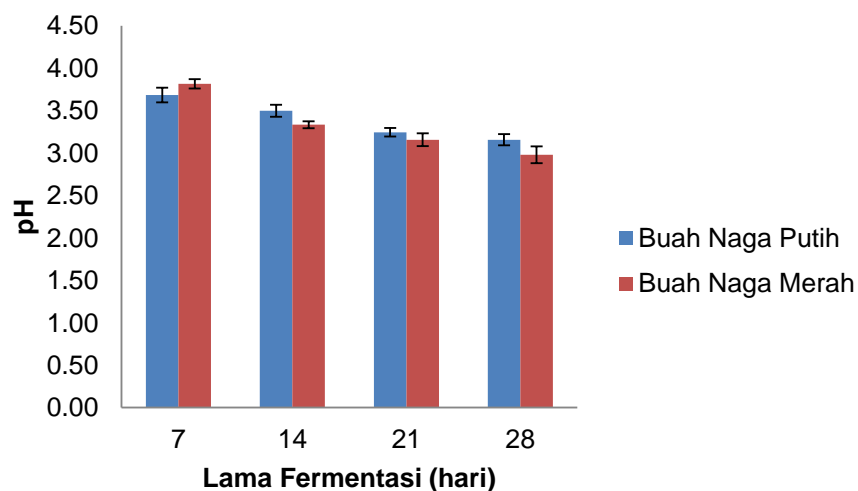
Asam asetat yang terdapat pada cuka berasal dari oksidasi etanol, sehingga semakin tinggi kadar etanol maka semakin tinggi pula kadar asam asetat yang dihasilkan. Hal ini selaras dengan kadar alkohol sari buah naga beralkohol, dimana sari alkohol buah naga daging merah memiliki kadar alkohol yang lebih tinggi (5,67%) dibandingkan sari alkohol buah naga daging putih (4%). Diduga semakin tinggi kadar alkohol dari sari buah beralkohol maka asam asetat yang dihasilkan semakin tinggi. Menurut Afifah (2010) bahwa selama proses fermentasi, khamir memecah gula (sukrosa) menjadi glukosa dan fruktosa, dan menggunakan glukosa untuk metabolisme sel sehingga menghasilkan etanol dan karbondioksida. Etanol selanjutnya akan dioksidasi oleh bakteri asam asetat menjadi asam asetat, sehingga makin tinggi etanol maka semakin tinggi asam asetat yang dihasilkan. Namun tidak semua alkohol akan diubah menjadi asam asetat. Menurut Daulay dan Rahman (1992), pada fermentasi asam asetat hampir semua etanol dalam medium kurang lebih 95% akan dioksidasi menjadi asam asetat dan sisanya akan hilang bersama gas yang keluar. Wood (1998) , menyatakan bahwa dalam fermentasi cuka, alkohol akan diubah menjadi asam asetat oleh bakteri asam asetat. Faktor yang mempengaruhi pembentukan asam asetat beberapa diantaranya adalah kadar alkohol, pH, dan faktor nutrisi media.

Menurut Soeharto (1986) waktu fermentasi yang terlalu pendek akan menghasilkan asam asetat yang rendah karena alkohol belum seluruhnya dipecah menjadi asam asetat. Pada beberapa sumber, fermentasi cuka berlangsung hanya selama 7-14 hari akan menghasilkan kadar total asam sebesar 4% atau lebih. Namun dari hasil penelitian hanya didapatkan total asam tertinggi sebesar 3,08 % selama 28 hari fermentasi. Hal tersebut diduga karena kurangnya nutrisi untuk mendukung pertumbuhan *Acetobacter Pasteurianus*. Semakin lama fermentasi maka nutrisi yang tersedia akan semakin berkurang, kurangnya nutrisi pada fermentasi asam asetat akan mempengaruhi pertumbuhan *Acetobacter pasteurianus* sehingga diduga dapat menyebabkan pembentukan asam asetat terhambat. Menurut Mountney and Gould (1988), ada 6 faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme pada makanan yaitu, oksigen, temperatur, nutrisi, pH, inhibitor, dan Aw. Selain itu diduga pH awal substrat yang digunakan dalam fermentasi asetat (Sari alkohol

buah naga) terlalu rendah yaitu sekitar pH 4,05 - 4,42. Menurut Du Toit and Pretorius (2000), bakteri asam asetat dapat tumbuh optimal pada pH antara 5,4 - 6,3, namun pada pH 3,0 - 4,0 bakteri ini masih dapat bertahan hidup.

4.3.2 pH Cuka Buah Naga

Rerata pH pada cuka buah naga yang dihasilkan berkisar antara 2,98 - 3,82 (Lampiran 4). pH akibat perlakuan varietas buah naga dan lama fermentasi asam asetat dapat dilihat pada **Gambar 4.8**.



Gambar 4.8 Grafik Rerata Nilai Ph Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga dan Lama Fermentasi

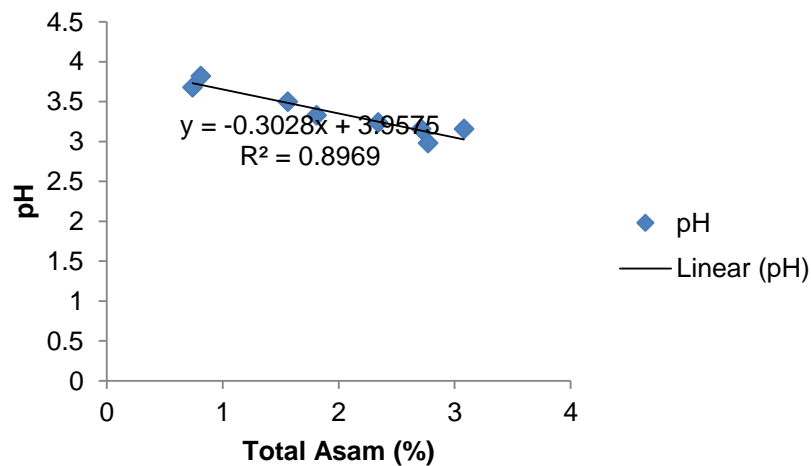
Gambar 4.8 menunjukkan bahwa nilai pH semakin rendah seiring dengan bertambahnya lama fermentasi asam asetat. pH paling terendah yaitu pada cuka varietas buah naga merah dengan lama fermentasi asam asetat 28 hari yaitu 2,98 dan pH tertinggi yaitu pada cuka varietas buah naga putih dengan lama fermentasi asam asetat 7 hari yaitu 3,68. Hasil analisa ragam pada Lampiran 4 menunjukkan bahwa perlakuan varietas buah naga dan lama fermentasi asam asetat memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha=0.05$) terhadap pH cuka daging buah naga, dan terdapat interaksi antara keduanya. Rerata pH akibat pengaruh varietas buah naga disajikan pada **Tabel 4.8**.

Tabel 4.9 Rerata Nilai pH Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga dan Lama Fermentasi

Varietas	Lama Fermentasi Asam Asetat (hari)	pH	DMRT 5%
Buah Naga Merah	7	3,82 ^{g^h}	-
	14	3,33 ^{de}	0,14
	21	3,16 ^b	0,13
	28	2,98 ^a	0,12
Buah Naga Putih	7	3,68 ^g	0,14
	14	3,50 ^e	0,14
	21	3,24 ^{bcd}	0,13
	28	3,16 ^b	0,13

Tabel 4.9 menunjukkan pH terendah terdapat pada perlakuan varietas buah naga merah dengan lama fermentasi asam asetat 28 hari yaitu 2,98 dan pH tertinggi terdapat pada perlakuan varietas buah naga putih dengan lama fermentasi 7 hari. Hal ini dikarenakan pada fermentasi alkohol jumlah etanol yang dihasilkan pada perlakuan varietas buah naga daging merah lebih tinggi dibandingkan buah naga daging putih. Kadar etanol yang tinggi tersebut kemudian difermentasi oleh bakteri *Acetobacter pasteurianus* menjadi asam asetat, sehingga asam asetat yang dihasilkan juga tinggi. Peningkatan total asam ini akan menurunkan pH akhir produk cuka buah naga. Menurut Naidu (2000), asam asetat yang terlarut akan terdisosiasi dan melepaskan proton-proton bebas yang menurunkan pH larutan.

Pada lama fermentasi 7 hari didapatkan nilai pH yang masih tinggi disebabkan karena pembentukan asam asetat masih sedikit sedangkan pada lama fermentasi 28 hari diduga alkohol telah banyak dioksidasi menjadi asam asetat sehingga pH menjadi lebih rendah. Menurut Ray (1996), semakin tinggi asam asetat yang dihasilkan maka semakin rendah pH didapatkan. Hal ini sesuai dengan analisa total asam pada Lampiran 5, dimana total asam yang didapatkan mempunyai nilai tertinggi pada lama fermentasi 28 hari sebesar 3,08 % dan nilai terendah pada lama fermentasi 7 hari sebesar 0,74%. Desrosier (1988), menambahkan bahwa asam asetat akan memberi rasa masam pada larutan dengan melepas proton H^+ yang menyebabkan penurunan pH. Menurut Lehninger (1995) nilai total asam yang semakin tinggi menunjukkan bahwa nilai pH akan semakin rendah. pH merupakan ukuran yang menyatakan konsentrasi ion H^+ pada media, sedangkan total asam menunjukkan titik akhir dimana semua ion H^+ terbebaskan karena penambahan NaOH ketika dilakukan titrasi.

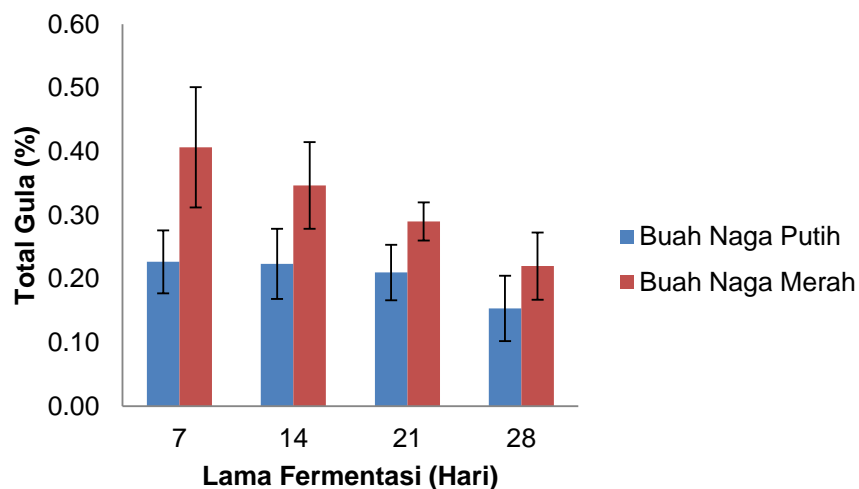


Gambar 4.9 Grafik Korelasi antara Total Asam dan pH pada Cuka Buah Naga

Gambar 4.9 menunjukkan bahwa terdapat korelasi negatif antara nilai total asam asetat dan pH cuka buah naga, sehingga semakin tinggi total asam asetat maka semakin rendah pH. Dari grafik tersebut didapatkan persamaan $y = -0,3028x + 3,9575$ dengan $R^2 = 0,8969$. Nilai keeratan hubungan antara total asam dan pH sebesar 89,69%.

4.3.3 Total Gula Cuka Buah Naga

Rerata total gula pada cuka buah naga yang dihasilkan adalah 0,15% - 0,41%. Total gula cuka buah naga tersebut mengalami penurunan dibandingkan dengan total gula pada sari alkohol buah naga. Hal tersebut terjadi dikarenakan gula dioksidasi oleh *Acetobacter pasteurianus* menjadi asam asetat. Total gula cuka buah naga akibat perlakuan varitas buah naga dan lama fermentasi ditunjukkan pada **Gambar 4.10**.



Gambar 4.10 Grafik Rerata Total Gula Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga dan Lama Fermentasi

Gambar 4.10 menunjukkan bahwa total gula semakin menurun seiring dengan lamanya fermentasi asam asetat. Hasil Analisa Ragam pada Lampiran 6 menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi dan varietas buah naga memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap total gula cuka buah naga. Namun tidak terdapat interaksi antara lama fermentasi dan varietas buah naga terhadap total gula cuka buah naga pada taraf nyata 5% ($\alpha = 0,05$). Rerata total gula akibat pengaruh varietas buah naga disajikan pada **Tabel 4.10**.

Tabel 4.10 Rerata Total Gula Akibat Pengaruh Varietas Buah Naga pada Cuka Daging Buah Naga

Varietas Buah Naga	Total Gula (%)	BNT (5%)
Buah Naga Daging Merah	0,32 ^b	0,05
Buah Naga Daging Putih	0,20 ^a	

Tabel 4.10 menunjukkan bahwa total gula pada perlakuan varietas cuka daging buah naga merah lebih tinggi yaitu 0,32% daripada total gula pada perlakuan varietas cuka daging buah naga putih yaitu 0,20%. Hal ini dikarenakan total gula awal buah naga merah lebih tinggi daripada total gula awal buah naga putih. Total gula cenderung menurun disebabkan gula yang terdapat dalam media digunakan sebagai sumber karbon bagi sel khamir untuk mensintesis energi melalui proses fermentasi etanol (Putri, 2008).

Tabel 4.11 Rerata Total Gula Akibat Pengaruh Lama Fermentasi pada Cuka Daging Buah Naga

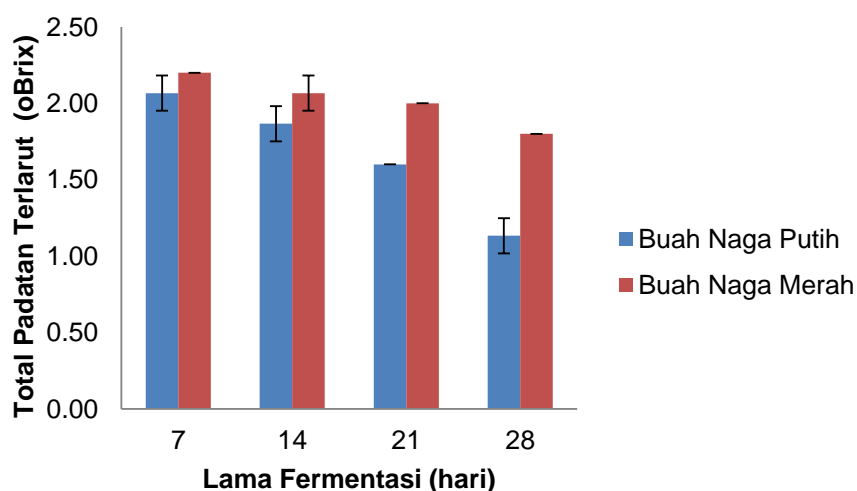
Lama Fermentasi (Hari)	Total Gula (%)	BNT (5%)
7	0,32 ^c	0,07
14	0,29 ^{bc}	
21	0,25 ^{ab}	
28	0,19 ^a	

Pada Tabel 4.11 menunjukkan bahwa total gula tertinggi terdapat pada perlakuan lama fermentasi asam asetat 7 hari yaitu 0,32% dan total gula terendah pada perlakuan lama fermentasi asam asetat 28 hari yaitu 0,19%. Hal ini diduga semakin lama fermentasi asam asetat maka semakin banyak gula yang dimanfaatkan oleh mikroba sehingga semakin lama total gula akan semakin berkurang. Penurunan kadar gula pada setiap perlakuan menjelaskan bahwa *Acetobacter pasteurianus* membutuhkan gula sebagai sumber karbon sehingga seiring bertambahnya waktu fermentasi maka total gula mengalami penurunan.

Menurut Defigueiredo dan Splittstoesser (1996), *Acetobacter* memiliki kemampuan untuk mengoksidasi sebagian glukosa menjadi produk yang memiliki struktur karbon yang sama, contohnya glukosa dioksidasi menjadi asam glukonat. Selain itu menurut Zannoni (2004), spesies *Acetobacter* memiliki kemampuan untuk mengoksidasi alkohol yang tinggi namun kemampuannya untuk mengoksidasi gula atau gula - alkohol lebih rendah. Azuma *et al.*, (2009), juga menambahkan bahwa metabolisme gula dan glikolisis pada *Acetobacter pasteurianus* diduga saling terkait melalui jalur penthosa phosphate dan pembentukan asetat.

4.3.4 TPT Cuka Buah Naga

Rerata nilai TPT pada cuka buah naga yang dihasilkan adalah 1,13°Brix – 2,20°Brix. Nilai TPT cuka buah naga tersebut mengalami penurunan dibandingkan dengan nilai TPT pada sari alkohol buah naga. Hal tersebut terjadi dikarenakan sebagian gula sisa fermentasi alkohol telah dioksidasi oleh *Acetobacter pasteurianus* menjadi asam asetat. Nilai TPT cuka buah akibat perlakuan varitas buah naga dan lama fermentasi ditunjukkan pada **Gambar 4.11**



Gambar 4.11 Grafik Rerata Nilai Total Padatan Terlarut (TPT) Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga dan Lama Fermentasi

Gambar 4.11 menunjukkan kadar total gula cuka buah naga semakin menurun seiring dengan bertambahnya lama fermentasi asam asetat. Nilai TPT terendah diperoleh pada lama fermentasi asam asetat 28 hari baik pada cuka daging buah naga merah maupun cuka daging buah naga putih. Secara umum nilai TPT cuka daging buah naga merah lebih tinggi daripada cuka daging buah naga putih.

Hasil Analisa Ragam pada Lampiran 6 menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi dan varietas buah naga memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap total padatan terlarut (TPT) cuka buah naga. Begitu pula pada interaksi antara lama fermentasi dan varietas buah naga juga memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap total padatan terlarut (TPT) cuka buah naga.

Tabel 4.12 Rerata Nilai TPT Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga Dan Lama Fermentasi

Varietas	Lama Fermentasi Asam Asetat (hari)	Total Padatan Terlarut (°Brix)	DMRT 5%
Buah Naga Merah	7	2,20 ^{fgh}	-
	14	2,07 ^{efg}	0,16
	21	2,00 ^{de}	0,16
	28	1,80 ^c	0,15
Buah Naga Putih	7	2,07 ^{ef}	0,16
	14	1,87 ^{cd}	0,16
	21	1,60 ^b	0,15
	28	1,13 ^a	0,14

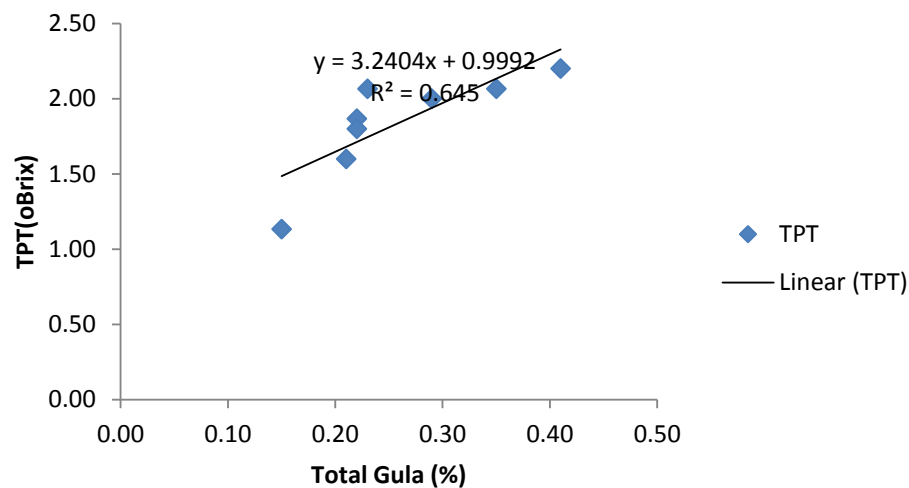
Tabel 4.12 menunjukkan bahwa nilai total padatan terlarut terendah pada perlakuan varietas buah naga putih dengan lama fermentasi 28 hari yaitu 1,13°Brix dan nilai total padatan terlarut tertinggi pada perlakuan varietas buah naga merah dengan lama fermentasi 7 hari yaitu 2,20°Brix. Cuka buah naga putih dengan lama fermentasi 28 hari memiliki nilai TPT paling rendah dikarenakan buah naga daging putih memiliki kandungan gula yang paling rendah dan selama 28 hari fermentasi asam asetat, sebagian gula yang tersisa setelah fermentasi alkohol dioksidasi oleh *Acetobacter pasteurianus* sehingga kadar gula menurun menyebabkan nilai TPT akhir cuka buah paling sedikit dibandingkan perlakuannya yang lain. Sedangkan cuka buah naga merah dengan lama fermentasi 7 hari memiliki nilai TPT yang paling tinggi karena total gula sari alkohol buah naga merah paling tinggi dibandingkan sari alkohol buah naga putih dan proses fermentasi asetat hanya berjalan selama 7 hari sehingga tidak banyak gula yang dioksidasi oleh *Acetobacter pasteurianus* menyebabkan nilai TPT tetap tinggi dan tidak banyak berubah dari nilai TPT sari alkohol buah naga merah. Menurut Steven (1985), Semakin rendah total gula maka total padatan terlarut yang dihasilkan juga akan rendah.

Faktor varietas buah naga memberikan hasil yang berbeda nyata terhadap nilai TPT cuka buah naga Hasil Analisa Ragam (Lampiran 7) pada faktor varietas buah naga menunjukkan bahwa nilai TPT tertinggi didapatkan pada cuka buah naga merah. Hal ini diduga karena cuka buah naga merah memiliki komponen yang berupa padatan terlarut dengan kadar yang lebih tinggi. Komponen padatan terlarut yang terdapat pada cuka buah naga adalah asam organik, gula dan pektin larut air. Dan hal tersebut selaras dengan hasil analisa total gula dan total asam cuka buah naga merah yang lebih tinggi daripada cuka buah naga putih. Menurut Garner *et al.*, (2006), Selain gula, padatan terlarut yang ada dalam sari buah adalah asam organik. Sehingga adanya asam organik yang dihasilkan pada cuka buah naga diduga ikut meningkatkan total padatan terlarutnya.

Pada faktor lama fermentasi nilai ragam juga memberikan hasil yang berbeda nyata terhadap nilai TPT cuka buah naga diduga karena semakin lama proses fermentasi maka gula yang dioksidasi oleh *Acetobacter pasteurianus* semakin meningkat sehingga menurunkan nilai TPT cuka buah naga pada akhir fermentasi asam asetat. Menurut De Mann (1976) kelarutan sukrosa dalam air cukup besar pada berbagai temperatur sehingga terhitung sebagai padatan terlarut. Menurut Garner *et al.*, (2006), gula merupakan padatan terlarut yang

paling banyak dalam sari buah. Penurunan total padatan terlarut selama fermentasi dikarenakan selama fermentasi berlangsung gula yang merupakan padatan terlarut terbanyak dalam medium, dioksidasi oleh *Acetobacter pasteurianus* menjadi asam asetat. Hal ini selaras dengan Reed dan Peppler (1973), yang mengatakan selama proses fermentasi bakteri berlangsung terjadi penurunan total padatan terlarut.

Semakin rendah total gula maka total padatan terlarut yang dihasilkan juga rendah. Korelasi antara total gula dan total padatan terlarut ditunjukkan pada **Gambar 4.12**.

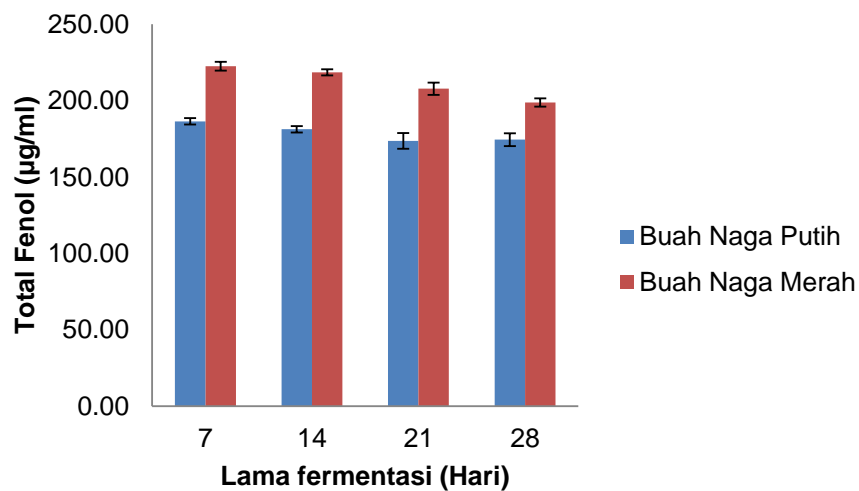


Gambar 4.12 Grafik korelasi antara Total Padatan Terlarut (TPT) dan Total Gula Pada cuka Buah Naga

Gambar 4.12 menunjukkan adanya korelasi positif dari total gula dan total padatan terlarut dimana diperoleh persamaan $y = 3,2404x - 0,9992$ dengan $R^2 = 0,645$. Nilai keeratan hubungan antara total gula dan total padatan terlarut sebesar 64,5%.

4.3.5 Total Fenol Cuka Buah Naga

Rerata total fenol pada cuka buah naga yang dihasilkan berkisar antara 174,44 $\mu\text{g/ml}$ – 222,50 $\mu\text{g/ml}$. Total fenol akibat perlakuan jenis buah dan konsentrasi ragi dapat dilihat pada **Gambar 4.13**.



Gambar 4.13 Grafik Rerata Total Fenol Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga dan Lama Fermentasi

Gambar 4.13 menunjukkan bahwa cuka buah naga merah memiliki total fenol yang lebih tinggi dibandingkan cuka buah naga merah. Selain itu cuka buah naga merah dan putih memiliki trend yang sama dimana total fenol mengalami penurunan hingga lama fermentasi 28 hari. Hasil analisa ragam Lampiran 8 menunjukkan bahwa perlakuan varietas buah naga dan lama fermentasi asam asetat memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha=0,05$) terhadap total fenol cuka daging buah naga dan terdapat interaksi antar keduanya ($\alpha=0,05$). Rerata total fenol akibat pengaruh varietas buah naga disajikan pada **Tabel 4.13**.

Tabel 4.13 Rerata Nilai Total Fenol Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga Dan Lama Fermentasi

Varietas	Lama Fermentasi Asam Asetat (hari)	Total Fenol (µg/ml)	DMRT 5%
Buah Naga Merah	7	222,50 ^{gh}	-
	14	218,43 ^g	6,52
	21	207,80 ^f	6,48
	28	198,80 ^e	6,41
Buah Naga Putih	7	186,42 ^{cd}	6,32
	14	181,23 ^c	6,20
	21	173,54 ^{ab}	6,03
	28	174,44 ^a	5,75

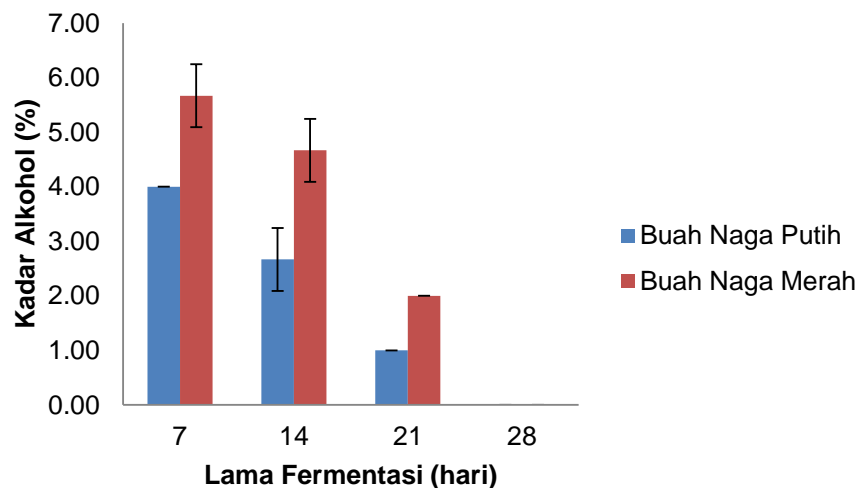
Tabel 4.13 menunjukkan total fenol tertinggi didapatkan pada perlakuan varietas buah naga daging merah 225,50 µg/ml sedangkan total fenol terendah terdapat pada perlakuan varietas buah naga daging putih sebesar 174,44 µg/ml. Hal ini diduga dikarenakan buah naga daging merah memiliki senyawa flavonoid

yang lebih tinggi dari pada buah naga daging putih. hal tersebut diperkuat dengan nilai total fenol sari buah naga yang lebih besar dibandingkan buah naga daging putih (Tabel 4.1). Kandungan flavonoid pada buah naga merah berasal dari pigmen berwarna merah- ungu yang dikenal sebagai betasianin. Menurut Khalil *et al.*, (2012), pigmen betasianin yang ada di daging buah naga merah adalah betanin, phylocactin, dan hylocerenin. Sedangkan buah naga putih tidak memiliki senyawa betasianin, sehingga total fenol yang dimiliki lebih rendah dari pada buah naga merah.

Pada tabel 4.13 dapat diketahui bahwa kadar fenolik cuka buah naga mengalami kenaikan hingga lama fermentasi 7 hari, kemudian sedikit menurun hingga fermentasi ke 28 hari. Kenaikan total fenol diduga terjadi akibat adanya asam asetat. Menurut Mehta *et al.*, (2012), etanol dan asam asetat dapat meningkatkan ekstraksi dan komponen fenolik bioaktif. Sedangkan penurunan kadar fenolik yang terjadi setelah fermentasi 14 hingga 28 hari diduga akibat terjadinya oksidasi senyawa fenol oleh oksigen. Dimana dalam fermentasi asam asetat fermentasi berlangsung dalam kondisi aerob. Senyawa fenolik sangat sensitif, tidak stabil dan sangat rentan terhadap degradasi. Faktor degradasi paling utama adalah temperatur, kandungan oksigen dan cahaya (Vatai, 2009). Senyawa fenolik rentan terhadap oksidasi karena salah satu sifat dari senyawa fenolik adalah sebagai antioksidan (Kalt *et al.*, 2000).

4.3.5 Kadar Alkohol Cuka Buah Naga

Pada fermentasi asam asetat, etanol hasil fermentasi alkohol akan dioksidasi oleh *Acetobacter pasteurianus* menjadi asam asetat. Dari hasil penelitian diketahui kadar alkohol rata-rata berkisar antara 0% - 4%. Rerata kadar alkohol cuka buah naga akibat perlakuan varietas buah naga dan lama fermentasi dapat dilihat pada **Gambar 4.14**.



Gambar 4.14 Grafik Rerata Kadar Alkohol Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga dan Lama Fermentasi

Pada Gambar 4.14 ditunjukkan bahwa kadar alkohol semakin menurun seiring dengan bertambahnya lama fermentasi asam asetat. Hal ini terjadi pada semua perlakuan varietas buah naga daging merah maupun daging putih. Kadar alkohol terendah pada perlakuan cuka daging buah naga merah dan cuka daging buah naga putih dengan lama fermentasi asam asetat 28 hari yaitu 0%, sedangkan kadar alkohol tertinggi pada perlakuan cuka daging buah naga merah yaitu 5,67%. Hasil analisa ragam pada Lampiran 9 menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi dan varietas buah naga memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap kadar alkohol cuka buah naga. Begitu pula pada interaksi antara lama fermentasi dan varietas buah naga juga memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap kadar alkohol cuka buah naga. Rerata kadar alkohol akibat pengaruh varietas buah naga disajikan pada **Tabel 4.14**.

Tabel 4.14 Rerata Nilai Kadar Alkohol Cuka Buah Naga Akibat Perlakuan Varietas Buah Naga Dan Lama Fermentasi

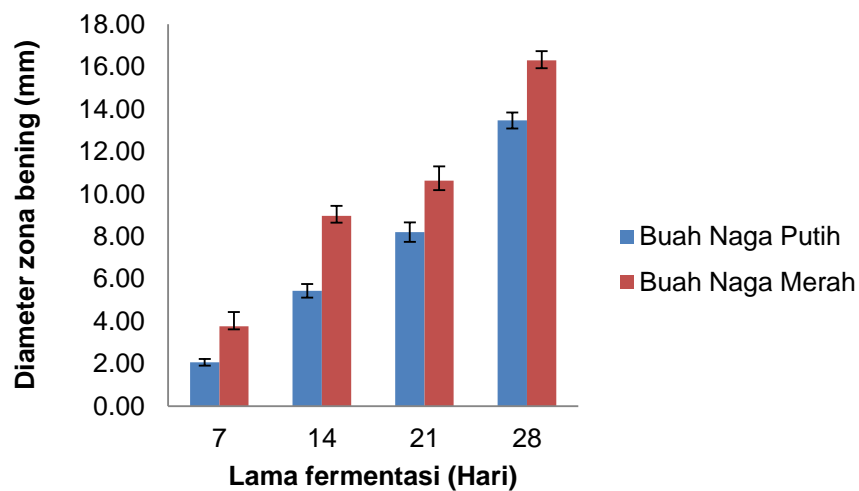
Varietas	Lama Fermentasi Asam Asetat (hari)	Kadar Alkohol (%)	DMRT 5%
Buah Naga Merah	7	5,67 ^h	-
	14	4,67 ^{fg}	0,69
	21	2,00 ^d	0,67
	28	0,00 ^a	0,64
Buah Naga Putih	7	4,00 ^f	0,69
	14	2,67 ^{de}	0,68
	21	1,00 ^c	0,66
	28	0,00 ^{ab}	0,61

Tabel 4.14 menunjukkan bahwa kadar alkohol terendah pada perlakuan varietas buah naga merah dan varietas buah naga putih dengan lama fermentasi 28 hari yaitu 0%, kadar alkohol tertinggi pada perlakuan varietas buah naga merah dengan lama fermentasi 7 hari yaitu 5,67%. Hal tersebut diduga karena alkohol dioksidasi oleh *Acetobacter pasteurianus* menjadi asam asetat selama fermentasi asam asetat berlangsung. Sehingga semakin panjang, lama fermentasi maka kadar alkohol semakin berkurang. Menurut Zannoni (2004), *Acetobacter pasteurianus* memiliki kemampuan untuk mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat. Ditambahkan oleh Wood (1998), etanol akan dioksidasi menjadi asetaldehid dengan bantuan enzim alkohol dehidrogenase dan NAD dan NADP sebagai koenzim. Asetaldehid kemudian mengalami hidrasi sehingga terbentuk asetaldehid-hidrat. Setelah itu asetaldehid-hidrat akan dioksidasi menjadi asam asetat dengan bantuan enzim asetaldehid dehydrogenase. Selain itu waktu fermentasi yang terlalu pendek akan menghasilkan produk yang sedikit karena substrat tidak seluruhnya terdegradasi (Soeharto, 1986). Diperkuat dengan pernyataan Daulay dan rahman (1992) yang menyebutkan alkohol merupakan substrat yang digunakan bakteri asam asetat untuk diubah menjadi asam asetat.

4.4 Aktivitas Antibakteri Cuka Buah Naga

4.4.1 Aktivitas Antibakteri Cuka Buah Naga pada *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan dalam uji antibakteri merupakan *Staphylococcus aureus* yang dalam fase logaritmik dengan jumlah 10^{-7} CFU/ml. Didapatkan fase logaritmik *Staphylococcus aureus* setelah diinkubasi selama 5 jam dalam suhu 35°C. Rerata diameter zona bening pada aktivitas antibakteri cuka buah naga yang dihasilkan berkisar antara 2,07mm – 16,30mm (Lampiran 11). Perubahan nilai aktivitas antibakteri cuka buah naga pada dua varietas buah naga selama proses fermentasi terhadap bakteri uji gram negative *Staphylococcus aureus* disajikan pada **Gambar 4.15**



Gambar 4.15 Grafik Perubahan Nilai Aktivitas Antibakteri Cuka Buah Naga Selama Proses Fermentasi Terhadap *Staphylococcus aureus*

Dari Gambar 4.15 dapat diketahui bahwa terjadi peningkatan aktivitas antibakteri pada kedua cuka buah naga selama proses fermentasi. Selain itu dari Gambar 4.15 menunjukkan zona bening tertinggi terdapat pada cuka buah naga daging merah dan lama fermentasi 28 hari sebesar 16,30 mm. Zona bening terendah terdapat pada cuka buah naga daging putih dan lama fermentasi 7 hari sebesar 2,07mm. Hasil analisa ragam Lampiran 11 menunjukkan bahwa perlakuan varietas buah naga dan lama fermentasi asam asetat memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha=0,05$) terhadap total fenol cuka daging buah naga dan terdapat interaksi antar keduanya ($\alpha=0,05$). Rerata Aktivitas Antibakteri (Diukur berdasarkan Zona Bening) *Staphylococcus aureus* akibat interaksi varietas buah naga dan lama fermentasi disajikan pada **Tabel 4.15**.

Tabel 4.15 Rerata Aktivitas Antibakteri (Diukur berdasarkan Zona Bening) *Staphylococcus aureus* Akibat Interaksi Varietas Buah naga dan Lama Fermentasi

Varietas	Lama Fermentasi Asam Asetat (hari)	Rerata Zona Bening (mm)	DMRT 5%
Buah Naga Merah	7	3,77 ^b	0,86
	14	8,97 ^{de}	0,91
	21	10,63 ^f	0,92
	28	16,30 ^h	-
Buah Naga Putih	7	2,07 ^a	0,82
	14	5,43 ^c	0,88
	21	8,20 ^d	0,89
	28	13,47 ^g	0,93

Pada Tabel 4.15 menunjukkan bahwa diameter zona bening yang tertinggi didapatkan pada perlakuan varietas buah naga merah dengan lama fermentasi 28 hari sebesar 16,30 mm. Sedangkan diameter zona bening yang terendah didapatkan pada perlakuan varietas buah naga putih dengan lama fermentasi 7 hari sebesar 2,07 mm. Hal tersebut diduga karena aktivitas antibakteri cuka dipengaruhi oleh kadar asam asetat yang dimiliki masing-masing cuka buah naga. Pada cuka buah naga merah 28 hari total asam yang dihasilkan paling tinggi dibandingkan perlakuan yang lain yaitu sebesar 3,08% (Tabel 4.8). Hal tersebut diperkuat oleh Ray and Bhunia (2014) bahwa cuka memiliki efek bakteriostatik pada konsentrasi asam asetat 0,2% dan efek baktericidal pada konsentrasi asam asetat diatas 0,3% dan efek antibakteri tersebut tergantung oleh pH.

Staphylococcus aureus termasuk dalam golongan bakteri gram positif. Bakteri gram positif memiliki dinding sel yang lebih tebal dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Dinding sel gram positif memiliki ketebalan 20 - 80nm yang tersusun atas peptidoglikan dan polisakarida, asam tekoat, asam teikuronik dan asam lipoteikoik (Cabeen and Jacobs-Wagner,2005). Selain itu menurut Pelczar (1998), dinding sel gram positif memiliki kandungan lipid yang lebih rendah (1-4%) dibandingkan bakteri gram negatif.

Menurut Nunheimer dan Fabian (1940), *Staphylococcus aureus* sangat sensitif terhadap asam asetat dibandingkan dengan asam organik yang lain. Mekanisme asam asetat sebagai senyawa antibakteri pada cuka buah naga terhadap *Staphylococcus aureus* berhubungan dengan lapisan lipid pada yang terdapat pada membran dan bentuk asam asetat tidak terdisosiasi. Asam asetat bersifat lipofilik sehingga akan lebih mudah masuk kedalam sel bakteri gram negatif dibanding gram positif. Menurut Luck dan Jager (1997), substansi lipofilik akan menyerang membran sel, menghancurkan atau menembus sel bakteri. Hal ini menyebabkan proton mengalir kedalam sel. Sel kemudian harus menggunakan banyak energi untuk mengimbangi penetrasi asam kedalam sel, sehingga terjadilah perbedaan potensial.

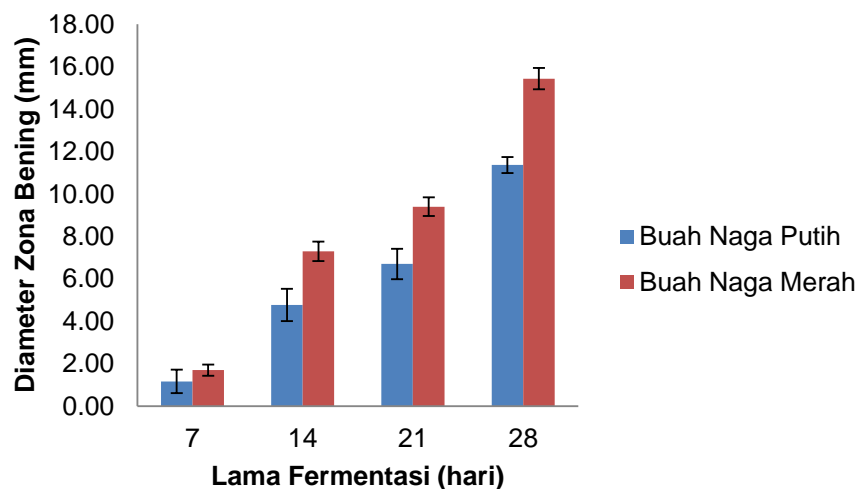
Asam organik yang tidak terdisosiasi dapat secara pasif berdifusi kedalam sel bakteri dan ketika asam organik masuk kedalam sel sitoplasma yang memiliki PH netral, asam organik akan terdisosiasi menjadi anion dan proton, yang mana akan menyebabkan munculnya efek penghambatan pada bakteri. Pelepasan ion proton menyebabkan pH internal menurun yang menyebabkan gangguan proton

dan menghambat mekanisme transportasi substrat (Raftari, *et al.*, 2009). Selain itu menurut Naidu (2000), proton intraselular yang berlebih dapat mengasamkan sitoplasma dan menyebabkan denaturasi protein serta kehilangan energi atau ATP. Karena ATP diperlukan untuk transpor aktif nutrient melalui membran, ketika ATP berkurang transfer nutrient ke dalam sel berkurang sehingga dapat menghambat sintesis protein atau bahkan membunuh bakteri. Hirshfield *et al.*, (2003) juga menambahkan bahwa pengasaman (Acidifikasi) sitoplasma dapat menghambat enzim pada bakteri yang sensitif asam.

Namun dari hasil uji antibakteri cuka buah naga diketahui zona bening yang dihasilkan *Staphylococcus aureus* lebih tinggi dibandingkan zona bening yang dihasilkan *Escherichia coli*. Hal tersebut diduga karena *Escherichia coli* lebih resisten terhadap asam asetat dibandingkan *Staphylococcus aureus*. Menurut Ray dan Bhunia (2014), beberapa strain bakteri patogen seperti salmonela dan *Escherichia coli* O157:H7, ditemukan memiliki resistensi pada pH rendah karena mereka memiliki kemampuan untuk menghasilkan protein yang disebabkan oleh lingkungan yang terlalu asam. Protein tersebut disebut sebagai “*stress protein*”, yang mana mampu membuat sel untuk bertahan ketika pH sel menurun. Hal serupa juga disebutkan oleh Conner *et al.*, (1997) yang menyatakan strain *Escherichia coli* O157:H7 mampu bertahan pada pH 5 pada media TSB dengan suhu 25°C dan 37°C. Sedangkan pada *Staphylococcus aureus*, menurut Smith *et al.* (1984), hanya mampu bertahan pada pH 5,2.

4.4.2 Aktivitas Antibakteri Cuka Buah Naga pada *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* yang digunakan dalam uji antibakteri merupakan *Escherichia coli* yang dalam fase logaritmik dengan jumlah 10^7 CFU/ml. Didapatkan fase logaritmik *Escherichia coli* setelah diinkubasi selama 6 jam dalam suhu 35°C. Rerata diameter zona bening pada aktivitas antibakteri cuka buah naga yang dihasilkan berkisar antara 1,17mm – 15,43mm (Lampiran 10). Perubahan nilai aktivitas antibakteri cuka buah naga pada dua varietas buah naga selama proses fermentasi terhadap bakteri uji gram negative *Escherichia coli* disajikan pada **Gambar 4.16**.



Gambar 4.16 Grafik Perubahan Nilai Aktifitas Antibakteri Cuka Buah Naga Daging Merah Dan Putih Selama Proses Fermentasi Terhadap *Escherichia coli*

Dari Gambar 4.16 dapat diketahui bahwa terjadi peningkatan aktivitas antibakteri pada kedua cuka buah naga selama proses fermentasi. Selain itu dari Gambar 4.16 menunjukkan zona bening tertinggi terdapat pada cuka buah naga daging merah dan lama fermentasi 28 hari sebesar 15,43 mm. Zona bening terendah terdapat pada cuka buah naga daging putih dan lama fermentasi 7 hari sebesar 1,17 mm. Hasil analisa ragam Lampiran 10 menunjukkan bahwa perlakuan varietas buah naga dan lama fermentasi asam asetat memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha=0,05$) terhadap total fenol cuka daging buah naga dan terdapat interaksi antar keduanya ($\alpha=0,05$). Rerata aktivitas antibakteri pada cuka buah naga akibat perlakuan varietas buah naga dan lama fermentasi terhadap *Escherichia coli* ditunjukkan pada **Tabel 4.16**

Tabel 4.16 Rerata Aktifitas Antibakteri (Diukur berdasarkan Zona Bening) *Escherichia coli* Akibat Interaksi Varietas Buah naga dan Lama Fermentasi

Varietas	Lama Fermentasi Asam Asetat (hari)	Rerata Zona Bening (mm)	DMRT 5%
Buah Naga Merah	7	1,70 ^{ab}	0,93
	14	7,30 ^d	1.01
	21	9,40 ^f	1,03
	28	15,43 ^h	-
Buah Naga Putih	7	1,17 ^a	0,93
	14	4,77 ^c	0,99
	21	6,70 ^{de}	1,03
	28	11,37 ^g	1,05

Tabel 4.16 menunjukkan bahwa diameter zona bening yang tertinggi didapatkan pada perlakuan varietas buah naga merah dengan lama fermentasi 28 hari sebesar 15,43 mm. Sedangkan diameter zona bening yang terendah didapatkan pada perlakuan varietas buah naga putih dengan lama fermentasi 7 hari sebesar 1,17 mm. Hal tersebut diduga karena aktivitas antibakteri cuka dipengaruhi oleh kadar asam asetat yang dimiliki masing-masing cuka buah naga. Pada cuka buah naga merah 28 hari total asam yang dihasilkan paling tinggi dibandingkan perlakuan yang lain yaitu sebesar 3,12% (Tabel 4.8). Hal tersebut diperkuat oleh Ray and Bhunia (2014) bahwa cuka memiliki efek bakteriostatik pada konsentrasi asam asetat 0,2% dan efek baktericidal pada konsentrasi asam asetat diatas 0,3% dan efek antibakteri tersebut tergantung oleh pH.

Escherichia coli termasuk dalam golongan bakteri gram negatif. Menurut Tortora *et al.*, (2004), selain lapisan peptidoglikan, dinding sel bakteri Gram negatif juga memiliki lapisan lagi yang berada diluar lapisan peptidoglikan yang tidak dimiliki oleh bakteri Gram Positif yang disebut membran luar atau *Outer Membrane*. Membran luar adalah lapisan yang terdiri dari fosfolipid, protein dan lipopolisakarida. Asam asetat bersifat lipofilik sehingga akan lebih mudah masuk kedalam sel bakteri gram negatif dibanding gram positif. Menurut Luck dan Jager (1997), substansi lipofilik akan menyerang membran sel, menghancurkan atau menembus sel bakteri. Hal ini menyebabkan proton mengalir kedalam sel. Sel kemudian harus menggunakan banyak energi untuk mengimbangi penetrasi asam kedalam sel, sehingga terjadilah perbedaan potensial. Ditambahkan oleh Alakomi (2007), pada bakteri gram negatif molekul hidrofilik dapat melewati membran luar melalui porin.

Mekanisme asam asetat sebagai senyawa antibakteri pada cuka buah naga terhadap bakteri Gram Negatif (*Escherichia coli*) berhubungan dengan lapisan lipid pada yang terdapat pada membran dan bentuk asam asetat tidak terdisosiasi. Asam organik yang tidak terdisosiasi dapat secara pasif berdifusi kedalam sel bakteri dan ketika asam organik masuk kedalam sel sitoplasma yang memiliki PH netral, asam organik akan terdisosiasi menjadi anion dan proton, yang mana akan menyebabkan munculnya efek penghambatan pada bakteri. Pelepasan ion proton menyebabkan pH internal menurun yang menyebabkan gangguan proton dan menghambat mekanisme transportasi substrat (Raftari, *et al.*, 2009). Selain itu menurut Naidu (2000), proton intraselular yang berlebih

dapat mengasamkan sitoplasma dan menyebabkan denaturasi protein serta kehilangan energi atau ATP. Karena ATP diperlukan untuk transpor aktif nutrient melalui membran, ketika ATP berkurang transfer nutrient ke dalam sel berkurang sehingga dapat menghambat sintesis protein atau bahkan membunuh bakteri. Hirshfield *et al.*, (2003) juga menambahkan bahwa pengasaman (Acidifikasi) sitoplasma dapat menghambat enzim pada bakteri yang sensitif asam.

4.6 Perlakuan Terbaik Cuka Buah Naga

Analisa perlakuan terbaik ditentukan dengan menggunakan metode *Multiple Attribute* (Zeleny, 1992). Metode ini menggunakan prosedur pembobotan dengan menentukan nilai ideal pada masing-masing parameter. Pembobotan pada penelitian ini meliputi parameter total gula , TPT, total asam, pH, total fenol, kadar alkohol, dan aktivitas antibakteri cuka pada bakteri uji. Nilai ideal yang diharapkan untuk parameter total fenol, total asam, dan aktivitas antibakteri adalah nilai maksimal. Sedangkan nilai ideal yang diharapkan untuk parameter total gula , TPT, pH, dan kadar alkohol adalah nilai minimal.

Berdasarkan perhitungan menggunakan metode Zeleny, didapatkan kombinasi perlakuan terbaik yaitu buah naga daging merah dengan lama fermentasi cuka selama 28 hari (Lampiran 12). Pada perlakuan ini diperoleh nilai pH 2,98; total asam 3,08%; total padatan terlarut (TPT) 1,80°Brix; total gula 0,22%; total fenol 198,80 µg/ml; aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* 16,30mm; aktivitas Antibakteri *Escherichia coli* 15,43mm dan kadar alkohol 0%. Nilai masing-masing parameter untuk perlakuan terbaik tersebut dapat dilihat pada **Tabel 4.17**.

Tabel 4.17 Karakteristik Cuka Buah Naga Perlakuan Terbaik

Parameter	Nilai Perlakuan Terbaik
pH	2,98
Total Asam	3,08 %
TPT	1,8 °Brix
Total Gula	0,22 %
Total Fenol	198,80 µg/ml
Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	16,30 mm
Antibakteri <i>Escherichia coli</i>	15,43 mm
Alkohol	0,00%

BAB V KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan pengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap kedua perlakuan yang diberikan, yaitu varietas buah naga dan lama fermentasi terhadap nilai pH, total asam, TPT, total gula, total fenol, alkohol dan aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* cuka buah naga.

Hasil uji perlakuan terbaik dengan menggunakan metode Zeleny menunjukkan bahwa cuka buah naga yang terbuat dari buah naga daging merah dengan lama fermentasi 28 hari mampu menghasilkan kadar asam asetat yang tinggi. Kadar asam asetat yang dihasilkan pada perlakuan tersebut adalah 3,08%. Selain itu cuka buah naga daging merah 28 hari memiliki karakteristik pH 2,98, TPT 1,8 °Brix, total gula 0,22%, total fenol 198,80 µg/ml, alkohol 0%, aktivitas antibakteri pada bakteri uji *S.aureus* 16,60 mm, aktivitas antibakteri pada bakteri uji *E.coli* 15,43 mm.

5.2 Saran

1. Total gula yang digunakan disamakan antara kedua varietas buah naga, sehingga diketahui pengaruh kandungan buah naga terhadap karakteristik cuka yang dihasilkan
2. Dilakukan penambahan nutrisi complex pada tahap fermentasi asam asetat, untuk mempercepat proses fermentasi
3. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai proporsi penambahan bakteri *Acetobacter pasteurianus* agar menghasilkan cuka buah naga yang paling baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous*, 2015. **Fermipan Baking Powder**. Diakses tanggal 12 juli 2015.
http://mall.azhar.jp/oc/index.php?route=product/product&product_id=231.
- Adam, M. R. dan Moss, M. O. 1995. **Food Microbiology**. The Royal Society of Chemistry
- Afifah, N. 2010. **Analisis Kondisi dan Potensi Lama Fermentasi Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Pathogen (*Vibrio cholera* dan *Bacillus cereus*)**. Skripsi. Universitas Islam Negeri. Malang.
- Ahmed, J., Shivhare, U.S. and Kaur, M. 2002. **Thermal Colour Degradation Kinetics Of Mango Puree**. International Journal of Food Properties 5: 359-366.
- Alakomi H.-L.2007. **Weakening of the Gram-negative Bacterial Outer Membrane**. Julkaisija-Utgivare- Publisher. Finland
- Ali, W.M. 2008. **Biokonversi Selulosa Menjadi Sumber Energi Mikrobial**. Jakarta
- AOAC. 1995. **Official Method of Analysis of AOAC International Sixteenth Edition 5th revision**. Volume II. Edited by P. Cunniff. AOAC International. USA.
- Apriyantono, A., D. Fardiaz, dan Puspitasari. 1989. **Petunjuk Laboratorium Analisa Pangan**. PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.
- Ariyanto, H. 2006. **Budidaya Tanaman Buah – buahan**. PT. Citra aji parmana. Yogyakarta.
- Ariyanto, H.D., Hidayatulloh, F., dan Murwono, J. 2013. **Pengaruh Penambahan Gula Terhadap Produktivitas Alkohol Dalam Pembuatan Wine Berbahan Apel Buang (*Reject*) dengan menggunakan Nopkor MZ.11**. Jurnal Teknologi Kimia dan Industri. Vol.2 No.4
- Arthur,L.B. 1980. **Procedur for Testing in Agar Media Dalam: Antibiotic in Laboratory Medicine**. Williams and Walkins,Baltimore.

- Attri, B.L. 2009. **Effect of Initial Sugar Concentration on The Physico-Chemical Characteristics and Sensory Qualities of Cashew Apple Wine.** Natural Product Radiance 8(4); 374-379
- Azuma Y., Hosoyama, A., Matsutani, M., Furuya, N., Horikawa, H., Harada, T., Hirakawa, H., Kuhara, S., Matsushita, K., Fujita, N., and Shirai, M. 2009. **Whole-genome analyses reveal genetic instability of *Acetobacter pasteurianus*.** Nucleic acids Research. Vol.37
- Bartowsky, E. and Henschke, P.A. 2008. **Acetic Acid Bacteria Spilage of Bottled Red Wine- a Review.** International Journal of Food Microbiology. 125, 60-70
- Buckle, K.A. 1987. **Ilmu Pangan.** Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Branen, A.L., Davidson, P.M. and Katz, B. 1980. **Antimicrobial Properties of Phenolic Antioxidants and Lipids.** Food Technol. 34(5); 42-53, 63
- Brunton, L. L. L. 2005. **Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutic** 11th edition. Mc Graw-Hill. USA
- Cabeen, M.T. & Jacobs-Wagner, C. (2005). **Bacterial Cell Shape.** Nature Reviews. Microbiology. 3, 601-610
- Cahyono, B. 2009. **Buku Terlengkap Sukses Bertanam Buah Naga.** Pustaka Mina. Jakarta
- Cardoso, S.S. and Brunini, M.A. 2011. **Qualidade de pitayas de polpa branca armazenadas em diferentes temperaturas.** Revista Caatinga, Mossoró, 24:78-84.
- Castro, J.C., Valdeci, A.M., Laura, P.M., Rosimari, M., and Edmar, C. 2014. **Aplication of Coverings and storage at Different Temperatures on Dragon Fruits (*Hylocereus undatus*).** American Journal of Experimental Agriculture. 4(10): 1197-1208
- Chang, E.C.C. 2014. **Maturity Indices of Pitaya Fruits for The Fresh Market.** Diakses Tanggal 26 November 2015. <http://apip-phlows.econ.sinica.edu.tw/index.php/vegetables-fruits>
- Charoenchai, C., Fleey, G.H., and Henschke, P.A. 1998. **Effect of Temperature, pH, and Sugar Concentration on The Growth Rates and Cell Biomass of Wine Yeast.** Am. J. Enol. Vitic. 49 (3), 283 - 388
- Chew, M. 2009. **Fruit "Tonic" from the Dragon Fruit.** The Star Publication

- Cleenwerck I, D.V.P. 2008. **Polyphasic Taxonomy of Acetic Acid Bacteria: An Overview of The Currently Applied Methodology.** Int. J. Food. Microbiol. 125: 2-14
- Conner, D.E., Kotrola, J.S., Mikel, W.B., and Tamblyn, K.C. 1997. **Effect Of Acetic-Lactic Acid Treatments Applied To Beef Trim On Population Of *Escherichia Coli* O157:H7 And *Listeria Monocytogenes* In Ground Beef.** *J.Food Prot*, 60:1560-1563
- Dart, R.K. 1996. **Microbiology for The Analytical Chemist.** The Royal Society of Chemistry. Cambridge
- Daulay, D dan Rahman, A. 1992. **Teknologi Sayuran dan Buah – Buah.** Institut Teknologi Pertanian. Bogor.
- Davis. 2007. **Pitahaya (Dragon Fruit) Research & Production in California UC Small Farm Program.** Specialty Crops Conference Davis, CA.
- De Mann, J.M. 1997. **Kimia Makanan.** Penerbit ITB. Bandung
- De Ory, I., Romero, L.E. and Cantero, D. 1998. **Modeling The Kinetics of Growth of *Acetobacter aceti* in Discontinuous Culture: Influence of The Temperature of Operation.** Applied Microbiology Biotechnology, vol.49, 189-193.
- Desrosier, N.W. 1988. **Teknologi Pengawetan Pangan.** UI Press. Jakarta.
- De Vero, L., Gala, E., Gullo, M., Solieri, L., Landi S. and Giudici, P. 2006. **Application Of Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) Analysis To Evaluate Acetic Acid Bacteria In Traditional Balsamic Vinegar.** Food Microbiol. 23 (8), 809–813
- Du Toit, W.J., and Pretorius, I.S. 2002. **The occurrence, control and esoteric effect of acetic acid bacteria in winemaking.** Annals of Microbiology, 52
- Fardiaz. 1992. **Mikrobiologi Pangan.** Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Faridah, A., Holinesti, R., dan Syukuri, D. 2004. **Identifikasi Pigmen Betasianin Dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*).** Fakultas Teknik Pertanian Universitas Andalas
- Feranose, P. (2010). **Pengaruh Pemberian Buah Naga Merah (*H. polhyrizus*) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih yang diinduksi Aloksan.**
- Gan, S. 1987. **Farmakologi dan Terapi.** Cetakan Ketiga. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta
- Garner, D., Crisosto, C.H., Wiley, P., and Crisosto, G.M. 2004. **Measurment of Soluble Solid Content.**

- Gullo, M., De Vero, L., and Giudici, P. 2009. **Succession of Selected Strains of *Acetobacter Pasteurianus* and Other Acetic Acid Bacteria in Traditional Balsamic Vinegar.** Appl. Environ. Microbiol. 75
- Gunam, I.B.W. and Wrasati, L.P. 2009. **Pengaruh Jenis dan Jumlah Penambahan Gula pada Karakteristik Wine Salak.** *Agrotekno* 15 (1): 12- 19
- Gunasena, H.P.M. and Pushpakumara, D.K.N.G. 2006. **Chapter 4. Dragon Fruit (*Hylocereus undatus* (Web.) Britton dan Rose).** Sri Lanka Council for Agriculture Policy. 111-141.
- Gunatilaka, A.A.L., 2006. **Natural Products From Plant-Associated Microorganisms: Distribution, Structural Diversity, Bioactivity And Implication Of Their Occurrence.** *J. Nat. Prod.* 69: 509-526
- Haruta, S., Ueno, S., Egawa, I., Hashiguchi, K., Fujii, A., Nagano, M., Ishii, M., Igarashi, Y. 2006. **Succession of bacterial and fungal communities during a traditional pot fermentation of rice vinegar assessed by PCR-mediated denaturing gradient gel electrophoresis.** International Journal of Food Microbiology, 109: 79-87.
- Hermawan, A., Hana, W., dan Wiwiek, T. 2007. **Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk.** Universitas Erlangga. Surabaya
- Hidayat, N. dan Kumalaningsih, S. 1995. **Mikrobiologi Hasil Pertanian.** IKIP Malang. Malang.
- Hidayat, N.I, Nurika dan Lutfah, U. 1997. **Peranan Alkohol dan Kecepatan Aerasi Pada Fermentasi dengan Asam Asetat dari Air Kelapa.** Jurnal Penelitian Habitat 8(99). Hal 44 – 47
- Hirshfield, I.N., Terzulli, S. & O.Byrne, C. (2003). **Weak Organic Acids: A Panoply Of Effects On Bacteria.** Science Progress. 86, 245.269
- Hotmaka, O. and Ebner, H. 1995. **Vinegar by Submerge Oxidative Fermentation.** Ind. Eng. Chem. 51. Hal 1279 – 1280
- Hsieh, M. L., P. C. Chang, J. H. Shien, D. A. Graham, M. S. Lee, and Shieh, J. K. 2001. **Complete Nucleotide Sequence of Avian Paramyxovirus Type 6 Isolat from Duck.** J. Gen Virol. 82: 2157-2168.
- Idawati, Nurul. 2012. **Budidaya Buah Naga Hitam Varietas Baru yang Kian Diburu.** Pustaka Baru Press. Yogyakarta

- Jackson S. R. (2014). **Wine Science fourth edition**. Academic Press. Ontario
- Jamilah B. *et al.* **Physico-Chemical Characteristics Of Red Pitaya (*Hylocereus Polyrhizus*) Peel**. International Food Research Journal. 2011, 18: 279-286.
- Jay, J.M. 1992. **Modern Food Microbiology. 4th edition**. Chapman and Hall. New York
- Jaya, I.K.D. 2010. **Morfologi dan Fisiologi Buah Naga dan Prospek masa Depan Di Indonesia**. Crop Agro. Vol.3 No.1
- Jayatissa, P.M. 1983. **Palm Sap Vinegar**. Widyodaya J.,Arts.Sci., Lett., Vol. 11, Nos 1&2 , page 63-68
- Jiang, Y., Sen, L., Lei, Z. and Ping, Y. 2013. **Upgrading the Fermentation Process Of Zhejiang Rosy Vinegar by Purebred Microorganism**. Advances in Microbiology,297-301
- Judoamidjoyo, M. 1992. **Teknologi Fermentasi**. PAV Bioteknologi IPB. Bogor.
- Judoamidjojo, R.M., A.A.Darwis, dan E.G.Sa'id. 1992. **Teknologi Fermentasi**. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Ka'hko'nen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K.,Kujala, T. S., *et al.* 1999. **Antioxidant Activity Of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds**. Journal of Agriculture Food Chemistry.
- Kalt, W., J.E. Mcdonald and H Donner. 2000.**Anthocyanins, Phenolics And Antioxidant Capacity Ofprocessed Lowbush Blueberry Products**. J. Food Sci.
- Khalili, M. A., Che Abdullah, A.B., and Abdul, M.A. 2012. **Antibacterial Activity of Flesh and Peel Methanol Fractions of Red Pitaya, White Pitaya and Papaya on Selected Food Microorganisms**. International Journal of Pharmaceutical Science. Vol 4, Suppl 3
- Knut, J.H. 2006. **Genetically Engineered Food: Methods and Detection 2nd Edition**. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA. Weinheim
- Kristanto, D. 2008. **Buah Naga, Pembudidayaan di Pot dan di Kebun**. Swadaya. Cimanggis. Depok.
- Kusmayati dan Agustini, N.W.R. 2007. **Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentum*)**, J Biod. 8(1) : 48 – 53.

- Lay, A dan Heliyanto, B. 2011. **Prospek Agro-Industri Aren (Arenga Pinnata).** Perspektif Vol.10 No.1
- Le Bellec, F, Vailant, F., dan Imbert, E. 2006. **Pitahaya (Hylocereus spp) : a New Friut Crop, A Market with a Future, Fruits.** Vol 61(4):237-250.
- Lehninger, A. L. 1995. **Biochemistry.** Second Edition. Worth Publishing. New York.
- Lu, S.F., Lee, F.L., and Chen, H.K. 1999. **A Thermotolerant and High Acetic Acid-Producing Bacterium Acetobacter sp.I14-2.** Journal of Applied Microbiology, 55-62.
- Luck, E and Jager, M. 1997. **Antimicrobial Food Additives: Characteristic, Uses, Effects.** Second Edition. Springer. Verlag. Berlin
- Luders L. and McMahon G. 2006. **The Pitaya or Dragon Fruit (Hylocereus undatus).** In D. Forestry and Horticulture (Ed.)
- Mahattanatawee, K., Manthey, J.A., Luzio, G., Talcott, S.T., Goodner, K., Baldwin, E.A. 2006. **Total Antioxidant Activity and Fiber Content of Select Florida-Grown Tropical Fruits.** J. Agric. Food Chem, 54, 7355.
- Mehta, B.M., Eldin, K.A., Iwanski, R.Z. 2012. **Fermentation Effects on Food Properties.** CRC Press. London, NewYork.
- McKane, L and Kandel, J. 1986. **Microbiology: Essentials And Applications.** Singapore: McGrawHill. p. 61-88.
- Minh, N.G. 2014. **Various influencing to Red Dragon Fruit (Hylocereus polhyrizus) Wine Fermentation.** International Journal of Multidisciplinary Research and Development, 1(5) : 94-98
- Muafi, K. 2004. **Produksi Asam Asetat Kasar dari Jerami Nangka (Kajian Pengaruh Penambahan Sukrosa pada Tahap Fermentasi Alkoholik dan Pengaruh Konsentrasi Starter dan Lama Fermentasi pada Tahap Fermentasi Asam Asetat).** Skripsi. THP. FTP. Universitas Brawijaya.
- Mountney, G. J. and Gould, W. A. (1988). **Practical Food Microbiology and Technology.** AVI Books, Van Nostrand Reinhold Company, New York, USA.
- Naidu, A. S. 2000. **Natural Food Antimicrobial Systems.** CRC Press. USA.
- Nanda, K., Taniguchi, M., Ujike, S., Ishihara, N., Mori, H., Ono, H., Murooka, Y. 2001. **Characterization of acetic acid bacteria in traditional acetic acid fermentation of rice vinegar (komesu) and unpolished rice**

vinegar (kurosu) produced in Japan. Applied and Environmental Microbiology, 67: 986-990.

Nerendranath, N.N., and Ronan, P. 2004. **Relationship between pH and Medium Dissolved Solids in Terms of Growth and Metabolism of Lactobacilli and *Saccharomyces cerevisiae* during Ethanol Production.** Applied and Environmental Microbiology.

Nunheimer, T.D. and Fabian, F.W. 1940. **Influence Of Organic Acid, Sugars, And Sodium Chloride Upon Strains Of Food Poisoning Staphylococci.** Am. J. Public Health. 30:1040

Nurhayani. 2000. **Peningkatan Kandungan Protein Kulit Umbi Ubi Kayu Melalui Proses Fermentasi.** Vol 6. JMS.

Ogontoyinbo, S.i., Babajide, J.M., Adenekan, M.K., Ajayi, J.O. and Kareem, S.O., Ayelaagbe, I.O.O., Atanda, O.O., Bodunde, G. 2011. **Chemical Properties of Vinegar Produced from Sweet Orange Peels (*Citrus Sinensis*).** Journal of Agriculture And Veterinary Sciences. Vol: 3

Okami, Y. 1986. **Marine Microorganism As A Source Of Bioactive Agents.** Microbial Ecology. Vol. 12:65-78

Ortiz-Hernandes, Y.D. and J.A. Carrillo-Salazar. 2012. **Pitahaya (*Hylocereus spp.*); A Short Review.** Comunicata Scientiae 3(4); 220-237

Pantastico, Er.B. 1989. **Fisiologi Pasca Panen, Penanganan dan Pemanfaatan Buah-buahan dan Sayur-sayuran Tropika dan Sub-tropika (Terjemahan Kamariyani).** Gajahmada University Press. Yogyakarta. 409

Parker, Tony C. B. 2000. ***Staphylococcus aureus*.** Di dalam Lund, B. M., Baird-Parker, T. C, dan G. W. Gould (eds.). 2000. **The Microbiological Safety and Quality of Food.** Volume II. Aspen Publisher Inc., Maryland.

Patil, K.R. 2013. **Microbial Production of Vinegar (Sour Wine) by Using Various Fruits.** Indiana Journal of Applied Research. Vol:3

Pelczar, Michael, J., E.C.S Chan. 1988. **Dasar – Dasar Mikrobiologi.** UI Press. Jakarta

Perez, A. M., F. Vailant, Y. C. Blanco and C. Zuniga. 2007. **Microbiological Flora and Antioxidant Compounds.** Journal of The Science of Food and Agriculture. 87(9): 1710-6.

- Potter, N. N and Hotchkiss, J. H. 1995. **Food Science 5th Edition**. dalam Virda, F. 2006. **Studi Aktivitas Antioksidan Cuka Salak**. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., Klein, D. A. 2002. **Microbiology 5th edition**. McGraw Hill. USA.
- Prescott, S. C and Dunn, J. 1959. **Industrial Microbiology**. Mc.Graw Hill Book Company. New York
- Putri, L. S. E dan Dede, S. 2008. **Konversi Pati Ganyong (*Canna edulis* Ker.) Menjadi Bioetanol melalui Hidrolisis Asam dan Fermentasi**. Biodiversitas. Volume 9 Nomor 2, 112-116.
- Raftari, M., Jalilian, F.A., Abdulamir, A.S., Son, R., Sekawi, Z., and Fatimah, A.B. 2009. **Effect of Organic Acid on Eschericia coli) O157:H7 and Staphylococcus aureus Contaminated Meat**. The Open Microbiology Journal. 121-127
- Rahman, A. 1989. **Pengantar Teknologi Fermentasi**. Penerbit Arcan. Jakarta.
- Raji, Y.O., Mohammed, J., Idris, M.M., and Baba, Y.D. 2012. **Production of Vinegar from Pineapple Peel**. International Journal Of Advance Scientific Research and Technology.
- Ray, B. 1996. **Fundamental Food Microbiology**. CRC Press, Inc. Florida
- Ray, B. and Bhunia, A. 2014. **Fundamental Food Microbiology Fifth edition**. CRC Press. London, NewYork.
- Reed, G., and Pepler, J.H. 1973. **Yeast Technology**. AVI Pub. NewYork
- Reed G, Nagodawithana TW (1991). **Baker's yeast production**. In: Reed G, Nagodawithana TW (eds). Yeast Technol. Van Nostrand Reinhold, New York. pp. 261-314.
- Rianto, T.A. 2004. **Pembuatan Cuka Tomat (*Lycopersion commune*): Kajian Faktor Pengenceran dan Lama Fermentasi Asam Astat terhadap Sifat Fisik, Kimia, dan Organoleptik**. Skripsi. THP. FTP. Universitas Brawijaya. Malang.
- Ribereau-Gayon, P. 1985. **New Developments in Wine Microbiology**. Am. J. Enol.Vitic. 36: 1-10
- Rufino, M.S.M., Alves, R.E., Brito, E.S., Morais, S.M., Sampaio, C.G. 2007. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total**

Em Frutas Pela Captura do Radical Livre DPPH. EMBRAPA Com T cn
127:1-4.

- Sa'id, E.G. 1987. **Bioindustri, Penerapan Teknologi Fermentasi.** PAU. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta
- Saha, P. and Banerjee, S. 2013. **Optimization of Process Parameters for Vinegar Production Using Banana Fermentation.** International Journal of Research in Engineering and Technology. Vol:02 Issue:09
- Shin, R., Suzuki, M., Morishita, Y. 2002. **Influence of intestinal anaerobes and organic acids on the growth of enterohaemorrhagic *Escherichiacoli* O157:H7.** J Med Microbiol ; 51: 201-06.
- Sitepu, M.D. 2011. **Studi Aktivitas Antibakteri Cuka Strawberry (*Fiagara vesca L.*) (Kajian Proporsi Buah : Air dan Konsentrasi Sukrosa).** Skripsi. THP. FTP. Universitas Brawijaya. Malang.
- Soeharto, I. 1986. **Kinetika Perpindahan Oksigen pada Fermentasi Asam Asetat dari Alkohol.** Disertasi. UGM. Yogyakarta.
- Smith, J.L., Benedict, R.C., Buchanan, R.L., Kalinowski, S., Palumbo, S.A. 1984. **pH Dependent Acetate Injury in *Staphylococcus aureus*: Role of Temperature.** Lebens. Wiss. U Technol. 17:271-275
- Smulders, F.J.M., and Greer, G.G. 1998. **Integrating Microbial Decontamination With Organic Acids In HACCP Programmes For Muscle Foods: Prospects And Controversies.** International Journal of Food Microbiology 44, 149–169
- Stellman, J.M. 1998. **Encyclopaedia of Occupational Health and Safety, 4th edition,** International Labor Office. Geneva Switzerland.
- Strehaiano, P. 1983. **Effect of Innitial Substrate Concentration on Two Wine Yeast: Relation Between Glucose Sensitivity and Ethanol Inhibition.** Am. J. Enol. Vitic. 34 (1): 1 - 5
- Sudarmadji, S. 1982. **Bahan-Bahan Pemanis.** FTP. UGM. Yogyakarta.
- Suhartono, M.T. 1989. **Enzim dan Bioteknologi.** PAU Bioteknologi IPB. Bogor
- Suliantari dan Rahayu, W.P. 1990. **Teknologi Fermentasi Umbi-umbian dan Biji-bijian.** Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.
- Suparti, A.A. Dan Chalimah. 2012. **Uji Kualitas dan Kuantitas Produksi Bioethanol Batang Tanaman Sweet Sorghum Varietas Cty33 dan Numbu Skala Laboratorium.** Universitas Muhamadiyah Surakarta.

- Taiwan Food Industry Develop and Research Authorities. 2005. http://swarnabhumi.com/dragonfruit/Health_benefits_of_Dragon_Fruit.htm. diakses Tanggal 24 Februari 2015
- The Vinegar Institute, 2005. 5775 G Peachtree-Dunwoody Rd., Suite 500 Atlanta, GA 30342. 2005. <http://www.versatilevinegar.org/index.html>.
- Tortora, G.J., Funke, B.R., and Case, C.L. 2004. **Microbiology an Introduction Observing Microorganism Through a microscope**. Perason Education.
- Tranggono. 1990. **Bahan Tambahan Makanan**. PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Jogjakarta.
- Trisnawati, H. 2005. **Pembuatan Cuka Pisang Mas (*Musa paradisiaca var sapientum*) (Kajian Metode Pembuatan dan Lama Fermentasi Cuka)**. Skripsi. Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Umayah, E. Dan Amrun, M. 2007. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Naga (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britt.&Rose)**. Jurnal Ilmu Dasar. Vol.8 No.1
- Vatai, T.; Skerget, M.; Knez, Z. 2009. **Extraction Of Phenolic Compounds From Elder Berry And Differentgrape Marc Varieties Using Organic Solvents And/Or Supercritical Carbon Dioxide**. J. Food Eng.
- Vegas, C., Mateo, E., González, Á., Jara, C., Guillamón, J. M., Poblet, M., Torija, M. J., Mas, A. 2010. **Population dynamics of acetic acid bacteria during traditional wine vinegar production**. International Journal of Food Microbiology, 138: 130-136.
- Wahyuni, R. 2012. **Pemanfaatan Buah Naga Super Merah (*Hylocereus Costaricensis*) Dalam Pembuatan Jenang Dengan Perlakuan Penambahan Daging Buah Yang Berbeda**. Jurnal teknologi pangan. Vol.4 No.1
- Waluyo, S. 1984. **Beberapa Aspek Tentang Pengolahan Vinegar**. Dewi Ruci Press. Jakarta.
- Warsa, V.C. 1994. **Kokus Positif Gram. Dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran**. Staf Pengajar Fakultas Kedokteran UI. Binnarupa Aksara. Jakarta
- Wibowo, D. 1990. **Teknologi Fermentasi**. PAU Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

- Wignyanto, N.H. dan Wijaya, S. 1995. **Peningkatan Efisiensi Produksi Asam Asetat Menggunakan Kolom Bertingkat.** Jurnal Universitas Brawijaya 7(2). Hal 49 – 57.
- Winarno, F.G. 1995. **Enzim Pangan.** Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Wolf, C.E. and Gibbons, W.R. (1996) **Improved Method For The Determination Of Nisin.** Journal of Applied Bacteriology 80, 453– 457.
- Wood, B.J.B. 1998. **Microbiology of Fermented Food.** Vol I, 2nd ed. Blackie Academic & Professional. United Kingdom.
- Yang, R. Y. and Tsou, S. C. S. 2006. **Enhancing iron bioavailability of vegetables through proper preparation – principles and applications.** Journal of International Cooperation. 1: 107–119.
- Yang, H.L., Qi, Z.L., Xia, X.L., Xin, Y., Zhang, L., Leng, Y.W., Quan, W., and Wang, W. 2011. **An Optimum medium Design and Verified for Alcohol Vinegar Fermentation.** African Journal of Biotechnology. Vol:10(42) 8421-8427
- Zannoni, D. 2004. **Respiration in Archaea and Bacteria.** Published by Springer. Netherlands.
- Zeleny M. 1982. **Multiple Criteria Decision Making.** McGraw-Hill: New York.
- Zubaidah, E. 1998. **Teknologi Pangan Fermentasi.** Universitas Brawijaya. Malang
- Zubaidah, E. 2011. **Pengaruh Pemberian Cuka Apel Dan Cuka Salak Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar Yang Diberi Diet Tinggi Gula.** *Jurnal Teknologi Pertanian* Vol. 12 No.3

LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Analisa

1. Analisa Total Mikroba Starter (Fardiaz, 1993)

- Pengenceran akuades, setiap 9 ml akuades dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditutup dengan kapas dan kertas payung
- 39 gram media PDA untuk analisis *Saccharomyces cerevisiae* (ragi "Fermipan") dan 31 gram PGYA untuk analisa *Acetobacter Pasteurianus* dilarutkan dalam 1 liter akuades.
- Media, akuades (dalam tabung reaksi), cawan petri, dan tip disterilasi dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit
- Akuades didinginkan pada suhu kamar sedangkan media tetap diletakkan dalam autoklaf agar tidak menggumpal
- mengambil 1 ml starter bakteri yang akan dianalisa dan dimasukkan kedalam tabung pengenceran, lalu di vortex (pengenceran 10^{-1})
- Mengambil 1 ml sampel dari pengenceran diatas, dimasukkan ke tabung pengenceran berikutnya (pengenceran 10^{-2}) dan dilanjutkan untuk pengenceran berikutnya sampai pengenceran 10^{-9}
- Mikroba yang tumbuh dihitung dengan dan perhitungan dilakukan dengan menggunakan Total Plate Count (TPC) (Cappucino and Sherman, 1987)
 - Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30-300
 - Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu *colony counter* kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan dapat dihitung sebagai koloni
 - Satu deretan koloni yang terlibat sebagai garis tebal dihitung sebagai koloni.
 - Perhitungan:

$$\text{Koloni ml/gram} = \text{jumlah koloni per cawan} \times 1/\text{FP}$$

2. Analisa pH (Apriyantono, 1989)

Analisa pH dilakukan dengan menggunakan pH meter

- Sebanyak 30 ml sampel diambil dan ditempatkan dalam gelas beaker ukuran 50 ml
- Sebelum digunakan alat dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan buffer 7 dan 4 lalu di bersihkan dengan aquades selanjutnya dilakukan pengukuran pH
- Setiap kali dilakukan pengukuran pH sampel lain, pH meter dibersihkan dengan aquades

3. Analisa Total Gula (Apriyantono, 1989)

Pereaksi :

- Anthrone 1% dalam H_2SO_4 pekat
- Larutan glukosa standar 0,2 mg/ml dalam 100 ml aquades. Ambil 10 ml

Penentuan kurva standar

- Pipet ke dalam tabung reaksi larutan blanko 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 ml larutan glukosa standart. Tambahkan aquades samapi total volume masing-masing tabung reaksi 1 ml
- Panaskan dengan air mendidih selama 12 menit
- Didinginkan dengan cepat menggunakan air mengalir
- Pindahkan ke dalam kuvet dan baca absorbansinya dengan panjang gelombang 630 nm
- Buat kurva hubungan antara absorbansi (sumbu y) dengan glukosa (sumbu x)

Persiapan sampel :

- 5 ml sampel dimasukkan dalam labu ukur 100 ml
- Ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan
- Dituang kedalam erlenmayer 250 ml dan ditambahkan $CaCO_3$ diaduk dan ditutup plastik
- Dipanaskan pada suhu $100^\circ C$ selama 30 menit dan didinginkan
- Disaring dengan kertas saring
- Jika masih ada endapan, maka sampel perlu disaring kembali dengan menambahkan Pb-asetat sebanyak 2 tetes kemudian ditambahkan 1 gram Na-oksalat untuk mengendapkan Pb
- Diambil 1 ml filtrat dan dimasukkan kedalam labu ukur (pengenceran sesuai pembacaan)

Penentuan Total Gula :

- Ambil setiap 1 ml larutan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml *Anthrone* (0,05 gram dalam 50 ml H₂SO₄ pekat). Untuk sampel yang terlalu pekat harus diencerkan terlebih dulu dengan cara 1 ml sampel diencerkan dalam 9 ml akuades.
- Tutup dengan plastik, dihomogenkan, dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 12 menit
- Didinginkan dengan cepat menggunakan air mengalir
- Kemudian dibaca pada panjang gelombang 630 nm dan catat hasil pembacaan
- Tentukan total gula dengan persamaan regresi linear dengan rumus

$$Total\ gula\ \% = \frac{x \times pengenceran}{berat\ sampel\ (mg)} \times 100\%$$

Keterangan :

X= nilai glukosa yang didapat dari persamaan

4. Analisa Total Asam (Sudarmadji, 1997)

Standarisasi larutan NaOH 0,1 N :

- Ditimbang 0,1 gram asam oksalat
- Dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan 25 ml akuades dan dilarutkan
- Ditambahkan indikator *phenolphthalein* 1% sebanyak 2-3 tetes
- Dititrasi dengan larutan NaOH sampai terbentuk warna merah jambu

Perhitungan :

$$N\ NaOH = \frac{berat\ asam\ oksalat(gram) \times 2}{0,261 \times volume\ NaOH}$$

Penentuan total asam:

- 10 gram sampel diambil dan dimasukkan dalam labu ukur 100ml
- Ditambahkan akuades sampai tandabatas lalu dihomogenkan dan disaring dengan kertas saring
- Filtrat diambil sebanyak 50 ml dan dimasukkan kedalam erlenmayer
- Ditambahkan indikator *phenolphthalein* 1% sebanyak 2-3 tetes
- Dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai terbentuk warna merah jambu

$$\% \text{ Total asam} = \frac{ml\ NaOH \times BM\ asam\ asetat \times FP}{Gram\ sampel \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan :

BM asam asetat : 60

BM asam sitrat : 192

5. Analisa Total Padatan (AOAC, 1995)

- Sampel diambil dengan menggunakan pipet tetes
- Sampel kemudian diteteskan pada prisma *Hand refraktometer*
- Nilai hasil pengukuran ditentukan dengan melihat skala yang tertera pada *Hand refraktometer*

6. Analisa Kadar Alkohol

- Sampel dimasukan kedalam gelas ukur 100 ml sebanyak 80 ml
- Alkoholmeter dimasukkan kedalam gelas ukur, kemudian alkoholmeter distabilakan
- Nilai hasil pengukuran kadar alkohol basis volum/volume ditentukan dengan melihat skala yang tertera pada alkoholmeter

7. Analisa Total Fenol (modifikasi Yang, *et al.* 2006)

Pembuatan Kurva Standart Asam Galat

- Dibuat larutan stock asam galat konsentrasi 1000 µg/ml
- Diencerkan menggunakan labu ukur 100 ml hingga diperoleh larutan asam galat 0 µg/ml, 20 µg/ml, 40 µg/ml, 60 µg/ml dan 100 µg/ml
- Diambil 300 µl setiap konsentrasi larutan asam galat, dimasukkan kedalam tabung reaksi
- Ditambahkan larutan reagen Folin-Ciocalteu 10% 600 µl dan 2400 µl larutan Na₂CO₃ 75 g/L
- Analisa dilakukan secara duplo atau triplo
- Diinkubasi selama 1 jam pada suhu ruang dalam kondisi gelap
- Dimasukkan ke kuvet untuk diukur absorbansi dengan panjang gelombang 765 nm
- Dibuat kurva standar asam galat dengan x= konsentrasi asam galat dan y= absorbansi
- Dihitung persamaan regresi linear dan R²

Prosedur Analisa Total Fenol :

- Sampel diambil sebanyak 300 µl dan dimasukkan tabung reaksi
- Ditambahkan 600 µl reagen Folin-Ciocalteu 10% dan 2400 µl larutan Na₂CO₃ 75 g/L lalu di vortex
- Diinkubasi selama 1 jam pada suhu ruang dalam kondisi gelap

- Dimasukkan ke kuvet untuk diukur absorbansi dengan panjang gelombang 765 nm
- Dihitung total fenol dengan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Kadar Total Fenol } (\mu\text{g}/\text{ml}) = \frac{X \mu\text{g}/\text{ml} \times \text{Vol Filtrat}}{FP}$$

8. Aktivitas Antibakteri (modifikasi Wolf and Gibbon, 1996)

- Nutrient Agar steril dalam erlenmeyer 100 ml sebanyak 30 ml didinginkan hingga 35°C
- Kultur bakteri indikator sebanyak 40 µL dengan konsentrasi 10⁷ cfu/ml dimasukkan dalam petri steril dan kemudian dituang NA steril, diratakan dan dibiarkan hingga memadat (±15 menit)
- Dibuat sumuran sebanyak 4 buah per cawan dengan diameter sumuran masing-masing sebesar 8 mm
- Sampel yang diuji dituang ke dalam lubang sumuran sebanyak 100 µL dan diinkubasi selama 12 jam pada suhu 37°C
- Diamati adanya zona bening dan diukur diameter zona bening dengan mikrometer

Lampiran 2. Data Sari Buah Naga

a. Sari Buah Naga Daging Putih

Analisa	Ulangan			Hasil Rerata
	I	II	III	
pH	4,72	4,65	4,66	4,69
Total Asam (%)	0,36	0,41	0,39	0,375
TPT	2,6	2,6	2,4	2,5
Total Gula (%)	1,45	1,45	1,35	1,4
Total Gula setelah penambahan 12% Sukrosa (%)	13,81	14,22	13,68	13,745
Total Fenol ($\mu\text{g/ml}$)	98,64	96,66	96,89	97,765

b. Sari Buah Naga Daging Merah

Analisa	Ulangan			Hasil Rerata
	I	II	III	
pH	5	5,13	5,04	5,02
Total Asam (%)	0,28	0,31	0,24	0,26
TPT	6,8	6,6	6,8	6,8
Total Gula (%)	4,82	4,94	4,86	4,84
Total Gula setelah penambahan 12% Sukrosa (%)	16,92	17,85	16,34	16,63
Total Fenol ($\mu\text{g/ml}$)	115,5	124,16	119,26	117,38

Lampiran 3. Data dan Analisa Sari Alkohol Buah Naga

a. pH Sari Alkohol Buah Naga

Perlakuan	Ulangan			Total Perlakuan (P)	Rerata	STD
	I	II	III			
Buah Naga Merah	4,45	4,6	4,59	13,64	4,55	0,08386
Buah Naga Putih	4,06	4,12	4,19	12,37	4,12	0,06506
Rerata	4,255	4,36	4,39			

ANOVA

Source of Variation	SS	Df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0,268817	1	0,268817	47,71893	0,002304	7,708647
Within Groups	0,022533	4	0,005633			
Total	0,29135	5				

Uji Lanjut BNT (Faktor A)

Varietas Buah Naga	Data	Urutan	α	sd	BNT	Notasi
Buah naga merah	4,55	4,12	2,78	0,06	0,1701	a
Buah naga Putih	4,12	4,55				b

b. Total Asam Sari Alkohol Buah Naga

Perlakuan	Ulangan			Total Perlakuan (P)	Rerata	STD
	I	II	III			
Buah Naga Merah	0,5	0,65	0,55	1,70	0,57	0,07638
Buah Naga Putih	0,69	0,73	0,8	2,22	0,74	0,05568
Rerata	0,595	0,69	0,675			

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0,045067	1	0,04506	10,0895	0,03365	7,708647
Within Groups	0,017867	4	0,00446			
Total	0,062933	5				

Uji Lanjut BNT (Faktor A)

Varietas Buah Naga	Data	Urutan	t_{α}	sd	BNT	Notasi
Buah naga merah	0,57	0,57	2,78	0,05	0,1515	a
Buah naga Putih	0,74	0,74				b

c. Total Gula Sari Alkohol Buah Naga

Perlakuan	Ulangan			Total Perlakuan (P)	Rerata	STD
	I	II	III			
Buah Naga Merah	0,35	0,48	0,5	1,33	0,44	0,08145
Buah Naga Putih	0,24	0,17	0,28	0,69	0,23	0,05568
Rerata	0,295	0,325	0,39			

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0,06826	1	0,0682667	14,027397	0,02003	7,70864
Within Groups	0,01947	4	0,004866			
Total	0,08773	5				

Uji Lanjut BNT (Faktor A)

Varietas Buah Naga	Data	Urutan	t_{α}	sd	BNT	Notasi
Buah Naga Merah	0,44	0,23	2,78	0,06	0,1581	a
Buah Naga Putih	0,23	0,44				b

d. TPT Sari Alkohol Buah Naga

Perlakuan	Ulangan			Total Perlakuan (P)	Rerata	STD
	I	II	III			
Buah Naga Merah	2,4	2,4	2,4	7,20	2,4	0,0000
Buah Naga Putih	2,2	2,2	2	6,40	2,13	0,11547
Rerata	2,3	2,3	2,2			

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0,106667	1	0,106667	16	0,01613	7,70864
Within Groups	0,026667	4	0,006667			
Total	0,133333	5				

Uji Lanjut BNT (Faktor A)

Varietas Buah Naga	Data	Urutan	$t\alpha$	sd	BNT	Notasi
Buah Naga Merah	2,40	2,13	2,78	0,07	0,1851	a
Buah Naga Putih	2,13	2,40				b

e. Total Fenol Sari Alkohol Buah Naga

Perlakuan	Ulangan			Total Perlakuan (P)	Rerata	STD
	I	II	III			
Buah Naga Merah	204,34	206	208,1	618,44	206,15	1,88429
Buah Naga Putih	170,1	173,14	174,12	517,36	172,45	2,09612
Rerata	187,22	189,57	191,11			

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	1702,861	1	1702,861	428,7019	3,21E-05	7,708647
Within Groups	15,88853	4	3,972133			
Total	1718,75	5				

Uji Lanjut BNT (Faktor A)

Varietas Buah Naga	Data	Urutan	$t\alpha$	sd	BNT	Notasi
Buah Naga Merah	206,15	172,45	2,78	1,63	4,5181	a
Buah Naga Putih	172,45	206,15				b

f. Kadar Alkohol Sari Alkohol Buah Naga

Perlakuan	Ulangan			Total Perlakuan (P)	Rerata	STD
	I	II	III			
Buah Naga Merah	5	6	6	17,00	5,67	0,57735
Buah Naga Putih	4	4	4	12,00	4,00	0,00000
Rerata	4,5	5	5			

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	4,166667	1	4,166667	25	0,00749	7,708647
Within Groups	0,666667	4	0,166667			
Total	4,833333	5				

Uji Lanjut BNT (Faktor A)

Varietas Buah Naga	Data	Urutan	$t\alpha$	sd	BNT	Notasi
Buah naga merah	5,67	4,00	2,78	0,33	0,9255	a
Buah naga Putih	4,00	5,67				b

Lampiran 4. Data dan Analisa pH Cuka Buah Naga

a. Data pH cuka Buah Naga

Perlakuan	Ulangan			Total Perlakuan (P)	Rerata	STD
	I	II	III			
A1B1	3,62	3,78	3,65	11,05	3,68	0,08505
A1B2	3,42	3,56	3,51	10,49	3,50	0,07095
A1B3	3,19	3,25	3,29	9,73	3,24	0,05033
A1B4	3,09	3,22	3,16	9,47	3,16	0,06506
A2B1	3,79	3,88	3,78	11,45	3,82	0,05508
A2B2	3,29	3,37	3,34	10,00	3,33	0,04041
A2B3	3,07	3,21	3,19	9,47	3,16	0,07572
A2B4	2,9	2,95	3,09	8,94	2,98	0,09849
Total Ulangan (R)	26,37	27,22	27,01			
Jumlah (S)				80,60		
Rerata Umum					3,33	

b. Tabel dua arah

Perlakuan	B1	B2	B3	B4	Total A	Rata - Rata
A1	11,05	10,49	9,73	9,47	40,74	3,395
A2	11,45	10,00	9,47	8,94	39,86	3,322
Total B	22,50	20,49	19,20	18,41		
Rata-rata	3,75	3,415	3,2	3,06833		
FK =	270,68					

c. Analisa Keragaman

Sumber Variasi	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	7	1,7194	0,2456	50,2156	2,657	4,026	*
A	1	0,0322	0,0322	6,5962	4,494	8,531	*
B	3	1,5947	0,5316	108,6678	3,239	5,292	*
PxK	3	0,0925	0,0308	6,3032	3,239	5,292	*
Error	16	0,0782	0,0048				
Total	23	1,7977					

d. Uji Lanjut BNT

- Uji Lanjut BNT akibat Faktor A

Varietas Buah Naga	Data	Urutan	$t\alpha$	sd	BNT	Notasi
Buah Naga Putih (A1)	3,40	3,32	2,12	0,03	0,0605	a
Buah Naga Merah (A2)	3,32	3,40				b

- Uji Lanjut BNT akibat Faktor B

Lama Fermentasi	Data	Urutan	$t\alpha$	sd	BNT	Notasi
7 Hari	3,75	3,07	2,12	0,04	0,09	a
14 Hari	3,42	3,20				b
21 Hari	3,20	3,42				c
28 Hari	3,07	3,75				d

e. Uji DMRT

Perlakuan	Rerata	Urutan
A1B1	3,68	2,98
A1B2	3,50	3,16
A1B3	3,24	3,16
A1B4	3,16	3,24
A2B1	3,82	3,33
A2B2	3,33	3,50
A2B3	3,16	3,68
A2B4	2,98	3,82

SD = 0,0404

P	2	3	4	5	6	7	8
Nilai Jarak R (8,16,0,05)	2,998	3,144	3,235	3,297	3,343	3,376	3,402
RP	0,121	0,1269	0,1306	0,1331	0,1349	0,1363	0,1374

	2,98	3,16	3,16	3,24	3,33	3,50	3,68	3,82	RP
2,98	0,00	0,18	0,18	0,26	0,35	0,52	0,70	0,84	0,121
3,16		0,00	0,00	0,09	0,18	0,34	0,53	0,66	0,127
3,16			0,00	0,09	0,18	0,34	0,53	0,66	0,131
3,24				0,00	0,09	0,25	0,44	0,57	0,133
3,33					0,00	0,16	0,35	0,48	0,135
3,50						0,00	0,19	0,32	0,136
3,68							0,00	0,13	0,137
3,82								0,00	
	a	b	bc	bcd	de	e	g	gh	

Lampiran 5. Data dan Analisa Total Asam Cuka Buah Naga

a. Data Total Asam cuka Buah Naga

Perlakuan	Ulangan			Total Perlakuan (P)	Rerata	STD
	I	II	III			
A1B1	0,63	0,80	0,79	2,22	0,74	0,09539
A1B2	1,58	1,56	1,55	4,69	1,56	0,01528
A1B3	2,4	2,35	2,27	7,02	2,34	0,06557
A1B4	2,71	2,82	2,79	8,32	2,77	0,05686
A2B1	0,82	0,79	0,83	2,44	0,81	0,02082
A2B2	1,74	1,94	1,76	5,44	1,81	0,11015
A2B3	2,7	2,78	2,65	8,13	2,71	0,06557
A2B4	3,11	2,98	3,14	9,23	3,08	0,08505
Total Ulangan (R)	15,69	16,02	15,78			
Jumlah (S)				47,49		
Rerata Umum					1,91	

b. Tabel dua arah

Perlakuan	B1	B2	B3	B4	Total A	Rata - Rata
A1	A1	2,22	4,69	7,02	8,32	22,25
A2	A2	2,44	5,44	8,13	9,23	25,24
Total B	Total B	4,66	10,13	15,15	17,55	
Rata-rata	0,77667	1,688333333	2,525	2,925		
FK =	93,971					

c. Analisa Keragaman

Sumber Variasi	d b	JK	KT	F Hitung	F Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	7	16,783	2,3977	468,225386	2,657	4,026	*
A	1	0,372504	0,3725	72,742880	4,494	8,531	*
B	3	16,338	5,4462	1063,547328	3,239	5,292	*
PxK	3	0,0726	0,0242	4,730947	3,239	5,292	*
Error	16	0,0819	0,0051				
Total	23	16,865					

d. Uji Lanjut BNT

- Uji Lanjut BNT akibat Faktor A

Varietas Buah Naga	Data	Urutan	$t\alpha$	sd	BNT	Notasi
Buah Naga Putih (A1)	1,85	1,85	2,12	0,03	0,0619	a
Buah Naga Merah (A2)	2,10	2,10				b

- Uji Lanjut BNT akibat Faktor B

Lama Fermentasi	Data	Urutan	$T\alpha$	sd	BNT	Notasi
7 Hari	0,78	0,78	2,12	0,04	0,09	a
14 Hari	1,69	1,69				b
21 Hari	2,53	2,53				c
28 Hari	2,925	2,93				d

e. Uji DMRT

Perlakuan	Rerata	Urutan
A1B1	0,74	0,74
A1B2	1,56	0,81
A1B3	2,34	1,56
A1B4	2,77	1,81
A2B1	0,81	2,34
A2B2	1,81	2,71
A2B3	2,71	2,77
A2B4	3,08	3,08

SD = 0,0413

P	2	3	4	5	6	7	8
Nilai Jarak R (8,16,0,05)	2,998	3,144	3,235	3,297	3,343	3,376	3,402
RP	0,123863	0,129895	0,133655	0,136216	0,138117	0,13948	0,140554

	0,74	0,81	1,56	1,81	2,34	2,71	2,77	3,08	RP
0,74	0,00	0,07	0,82	1,07	1,60	1,97	2,03	2,34	0,124
0,81		0,00	0,75	1,00	1,53	1,90	1,96	2,26	0,130
1,56			0,00	0,25	0,78	1,15	1,21	1,51	0,134
1,81				0,00	0,53	0,90	0,96	1,26	0,136
2,34					0,00	0,37	0,43	0,74	0,138
2,71						0,00	0,06	0,37	0,139
2,77							0,00	0,30	0,141
3,08								0,00	
	a	ab	c	d	e	f	fg	h	

Lampiran 6. Data dan Analisa Total Gula Cuka Buah Naga

a. Data Total Gula cuka Buah Naga

Perlakuan	Ulangan			Total Perlakuan (P)	Rerata	STD
	I	II	III			
A1B1	0,25	0,17	0,26	0,68	0,23	0,04933
A1B2	0,25	0,16	0,26	0,67	0,22	0,05508
A1B3	0,23	0,16	0,24	0,63	0,21	0,04359
A1B4	0,21	0,14	0,11	0,46	0,15	0,05132
A2B1	0,30	0,44	0,48	1,22	0,41	0,09452
A2B2	0,27	0,4	0,37	1,04	0,35	0,06807
A2B3	0,26	0,32	0,29	0,87	0,29	0,03000
A2B4	0,18	0,2	0,28	0,66	0,22	0,05292
Total Ulangan (R)	1,95	1,99	2,29			
Jumlah (S)				6,23		
Rerata Umum					0,22	

b. Tabel dua arah

Perlakuan	B1	B2	B3	B4	Total A	Rata - Rata
A1	0,68	0,67	0,63	0,46	2,44	0,203
A2	1,22	1,04	0,87	0,66	3,79	0,316
Total B	1,90	1,71	1,50	1,12		
Rata-rata	0,31667	0,285	0,25	0,18667	0,31667	0,285
FK	0,6172					

c. Analisa Keragaman

Sumber Variasi	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	7	0,1435	0,0205	6,0172	2,657	4,026	*
A	1	0,0759	0,0759	22,2799	4,494	8,531	*
B	3	0,0558	0,0186	5,4649	3,239	5,292	*
PxK	3	0,0117	0,0039	1,1487	3,239	5,292	tn
Error	16	0,0545	0,0034				
Total	23	0,1980					

d. Uji Lanjut BNT

- Uji Lanjut BNT akibat Faktor A

Varietas Buah Naga	Data	Urutan	t_{α}	sd	BNT	Notasi
Buah Naga Putih (A1)	0,20	0,20	2,12	0,02	0,0505	a
Buah Naga Merah (A2)	0,32	0,32				b

- Uji Lanjut BNT akibat Faktor B

Lama Fermentasi	Data	Urutan	t_{α}	sd	BNT	Notasi
7 Hari	0,32	0,19				a
14 Hari	0,29	0,25	2,12	0,03	0,07	ab
21 Hari	0,25	0,29				bc
28 Hari	0,18667	0,32				c

Lampiran 7. Data dan Analisa TPT Cuka Buah Naga

a. Data TPT Cuka Buah Naga

Perlakuan	Ulangan			Total Perlakuan (P)	Rerata	STD
	I	II	III			
A1B1	2,20	2,00	2,00	6,20	2,07	0,11547
A1B2	2	1,8	1,8	5,60	1,87	0,11547
A1B3	1,6	1,6	1,6	4,80	1,60	0,00000
A1B4	1	1,2	1,2	3,40	1,13	0,11547
A2B1	2,20	2,20	2,20	6,60	2,20	0,00000
A2B2	2	2,2	2	6,20	2,07	0,11547
A2B3	2	2	2	6,00	2,00	0,00000
A2B4	1,8	1,8	1,8	5,40	1,80	0,00000
Total Ulangan (R)	14,80	14,80	14,60			
Jumlah (S)				44,20		
Rerata Umum					1,93	

b. Tabel dua arah

Perlakuan	B1	B2	B3	B4	Total A	Rata - Rata
A1	6,20	5,60	4,80	3,40	20,00	1,667
A2	6,60	6,20	6,00	5,40	24,20	2,017
Total B	12,80	11,80	10,80	8,80		
Rata-rata	2,13333	1,96667	1,8	1,46667		
FK	81,4017					

c. Analisa Keragaman

Sumber Variasi	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	7	2,4517	0,350238	52,5357	2,657	4,026	*
A	1	0,7350	0,735000	110,2500	4,494	8,531	*
B	3	1,4583	0,486111	72,9167	3,239	5,292	*
PxK	3	0,2583	0,086111	12,9167	3,239	5,292	*
Error	16	0,1067	0,006667				
Total	23	2,5583					

d. Uji Lanjut BNT

- Uji Lanjut BNT akibat Faktor A

Varietas Buah Naga	Data	Urutan	t_{α}	sd	BNT	Notasi
Buah Naga Putih (A1)	1,67	1,67	2,12	0,03	0,0707	a
Buah Naga Merah (A2)	2,02	2,02				b

- Uji Lanjut BNT akibat Faktor B

Lama Fermentasi	Data	Urutan	$t\alpha$	sd	BNT	Notasi
7 Hari	2,13	1,47				a
14 Hari	1,97	1,80	2,12	0,05	0,10	b
21 Hari	1,80	1,97				c
28 Hari	1,46666667	2,13				d

e. Uji DMRT

Perlakuan	Rerata	Urutan
A1B1	2,07	1,13
A1B2	1,87	1,60
A1B3	1,60	1,80
A1B4	1,13	1,87
A2B1	2,20	2,00
A2B2	2,07	2,07
A2B3	2,00	2,07
A2B4	1,80	2,20

SD = 0,0471

P	2	3	4	5	6	7	8
Nilai Jarak R(8,16,0,05)	2,998	3,144	3,235	3,297	3,343	3,376	3,402
RP	0,141327	0,1482	0,15249	0,15542	0,15759	0,15915	0,1604

	1,13	1,60	1,80	1,87	2,00	2,07	2,07	2,20	RP
1,13	0,00	0,47	0,67	0,73	0,87	0,93	0,93	1,07	0,141
1,60		0,00	0,20	0,27	0,40	0,47	0,47	0,60	0,148
1,80			0,00	0,07	0,20	0,27	0,27	0,40	0,152
1,87				0,00	0,13	0,20	0,20	0,33	0,155
2,00					0,00	0,07	0,07	0,20	0,158
2,07						0,00	0,00	0,13	0,159
2,07							0,00	0,13	0,160
2,20								0,00	
	A	B	c	cd	de	ef	efg	fgh	

Lampiran 8. Data dan Analisa Total Fenol Cuka Buah Naga

a. Data Total Fenol Cuka Buah Naga

Perlakuan	Ulangan			Total Perlakuan (P)	Rerata	STD
	I	II	III			
A1B1	184,80	185,70	188,77	559,27	186,42	2,08150
A1B2	181,35	183,30	179,04	543,69	181,23	2,13253
A1B3	177,89	174,86	167,86	520,61	173,54	5,14428
A1B4	170,34	174,30	178,68	523,32	174,44	4,17176
A2B1	221,50	220,30	225,70	667,50	222,50	2,83549
A2B2	216,30	218,64	220,35	655,29	218,43	2,03315
A2B3	208,46	211,44	203,50	623,40	207,80	4,01094
A2B4	199,85	200,80	195,76	596,41	198,80	2,67807
Total Ulangan (R)	1560,49	1569,34	1559,66			
Jumlah (S)				4689,49		
Rerata Umum					192,61	

b. Tabel dua arah

Perlakuan	B1	B2	B3	B4	Total A	Rata - Rata
A1	559,27	543,69	520,61	523,32	2146,89	178,908
A2	667,50	655,29	623,40	596,41	2542,60	211,883
Total B	1226,77	1198,98	1144,01	1119,73		
Rata-rata	204,46	199,83	190,67	186,62		
FK	916304,85					

c. Analisa Keragaman

Sumber Variasi	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	7	7886,48	1126,641	102,212	2,657	4,026	*
A	1	6524,43	6524,434	591,914	4,494	8,531	*
B	3	1207,11	402,373	36,504	3,239	5,292	*
PxK	3	154,937	51,646	4,685	3,239	5,292	*
Error	16	176,362	11,023				
Total	23	8062,85					

d. Uji Lanjut BNT

- Uji Lanjut BNT akibat Faktor A

Varietas Buah Naga	Data	Urutan	t_{α}	sd	BNT	Notasi
Buah Naga Putih (A1)	178,91	2,12	2,12	1,36	2,8733	a
Buah Naga Merah (A2)	211,88	211,88				b

- Uji Lanjut BNT akibat Faktor B

Lama Fermentasi	Data	Urutan	$t\alpha$	sd	BNT	Notasi
7 Hari	204,46	186,62				a
14 Hari	199,83	190,67	2,12	1,92	4,06	b
21 Hari	190,67	199,83				c
28 Hari	186,622	204,46				d

e. Uji DMRT

Perlakuan	Rerata	Urutan
A1B1	186,42	174,44
A1B2	181,23	173,54
A1B3	173,54	181,23
A1B4	174,44	186,42
A2B1	222,50	198,80
A2B2	218,43	207,80
A2B3	207,80	218,43
A2B4	198,80	222,50

SD = 1,9168

P	2	3	4	5	6	7	8
Nilai Jarak R(8,16,0,05)	2,998	3,144	3,235	3,297	3,343	3,376	3,402
RP	5,7466	6,026486	6,2009	6,31976	6,407934	6,471189	6,5210

	174,44	173,54	181,23	186,42	198,80	207,80	218,43	222,50	RP
174,44	0,000	-0,903	6,790	11,983	24,363	33,360	43,990	48,060	5,747
173,54		0,000	7,693	12,887	25,267	34,263	44,893	48,963	6,026
181,23			0,000	5,193	17,573	26,570	37,200	41,270	6,201
186,42				0,000	12,380	21,377	32,007	36,077	6,320
198,80					0,000	8,997	19,627	23,697	6,408
207,80						0,000	10,630	14,700	6,471
218,43							0,000	4,070	6,521
222,50								0,000	
	a	ab	c	cd	e	f	g	gh	

Lampiran 9. Data dan Analisa Kadar Alkohol Akhir Cuka Buah Naga

a. Data Total Kadar Alkohol Akhir Cuka Buah Naga

Perlakuan	Ulangan			Total Perlakuan (P)	Rerata	STD
	I	II	III			
A1B1	4	4	4	12,00	4,00	0,00000
A1B2	3	3	2	8,00	2,67	0,57735
A1B3	1	1	1	3,00	1,00	0,00000
A1B4	0	0	0	0,00	0,00	0,00000
A2B1	5	6	6	17,00	5,67	0,57735
A2B2	4	5	5	14,00	4,67	0,57735
A2B3	2	2	2	6,00	2,00	0,00000
A2B4	0	0	0	0,00	0,00	0,00000
Total						
Ulangan (R)	19,0	21,0	20,0			
Jumlah (S)				60,00		
Rerata Umum					2,00	

b. Tabel dua arah

Perlakuan	B1	B2	B3	B4	Total A	Rata - Rata
A1	12,00	8,00	3,00	0,00	23,00	1,917
A2	17,00	14,00	6,00	0,00	37,00	3,083
Total B	29,00	22,00	9,00	0,00		
Rata-rata	4,83333	3,66667	1,5	0		
FK	150					

c. Analisa Keragaman

Sumber Variasi	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	7	96,000	13,714	109,714	2,657	4,026	*
A	1	8,167	8,167	65,333	4,494	8,531	*
B	3	84,333	28,111	224,889	3,239	5,292	*
PxK	3	3,500	1,167	9,333	3,239	5,292	*
Error	16	2,000	0,125				
Total	23	98,000					

d. Uji Lanjut BNT

- Uji Lanjut BNT akibat Faktor A

Varietas Buah Naga	Data	Urutan	t_{α}	sd	BNT	Notasi
Buah Naga Putih (A1)	1,92	1,92	2,12	0,14	0,3060	a
Buah Naga Merah (A2)	3,08	3,08				b

- Uji Lanjut BNT akibat Faktor B

Lama Fermentasi	Data	Urutan	$t\alpha$	sd	BNT	Notasi
7 Hari	4,83	0,00				a
14 Hari	3,67	1,50	2,12	0,20	0,43	b
21 Hari	1,50	3,67				c
28 Hari	0	4,83				d

e. Uji DMRT

Perlakuan	Rerata	Urutan
A1B1	4,00	0,00
A1B2	2,67	0,00
A1B3	1,00	1,00
A1B4	0,00	2,00
A2B1	5,67	2,67
A2B2	4,67	4,00
A2B3	2,00	4,67
A2B4	0,00	5,67

SD = 0,2041

P	2	3	4	5	6	7	8
Nilai Jarak R(8,16,0,05)	2,998	3,144	3,235	3,297	3,343	3,376	3,402
RP	0,611964	0,641766	0,660342	0,672997	0,682387	0,689123	0,6944

	0,00	0,00	1,00	2,00	2,67	4,00	4,67	5,67	RP
0,00	0,000	0,000	1,000	2,000	2,667	4,000	4,667	5,667	0,612
0,00		0,000	1,000	2,000	2,667	4,000	4,667	5,667	0,642
1,00			0,000	1,000	1,667	3,000	3,667	4,667	0,660
2,00				0,000	0,667	2,000	2,667	3,667	0,673
2,67					0,000	1,333	2,000	3,000	0,682
4,00						0,000	0,667	1,667	0,689
4,67							0,000	1,000	0,694
5,67								0,000	
	a	ab	c	d	de	f	fg	h	

Lampiran 10. Data dan Analisa Antibakteri *Escherichia coli* Cuka Buah Naga

a. Data Antibakteri *Escherichia coli* Cuka Buah Naga

Perlakuan	Ulangan			Total Perlakuan (P)	Rerata	STD
	I	II	III			
A1B1	2,1	2,2	1,9	6,20	2,07	0,15275
A1B2	5,8	5,3	5,2	16,30	5,43	0,32146
A1B3	8,1	7,8	8,7	24,60	8,20	0,45826
A1B4	13,2	13,3	13,9	40,40	13,47	0,37859
A2B1	4,5	3,2	3,6	11,30	3,77	0,66583
A2B2	8,6	8,8	9,5	26,90	8,97	0,47258
A2B3	10,2	11,4	10,3	31,90	10,63	0,66583
A2B4	16,5	16,6	15,8	48,90	16,30	0,43589
Total						
Ulangan (R)	69,00	68,60	68,90			
Jumlah (S)				206,50		
Rerata Umum					9,18	

b. Tabel dua arah

Perlakuan	B1	B2	B3	B4	Total A	Rata - Rata
A1	6,20	16,30	24,60	40,40	87,50	7,292
A2	11,30	26,90	31,90	48,90	119,00	9,917
Total B	17,50	43,20	56,50	89,30		
Rata-rata	2,91667	7,2	9,41667	14,8833		
FK	1776,8					

c. Analisa Keragaman

Sumber Variasi	d b	JK	KT	F Hitung	F Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	7	490,430	70,061	314,883	2,657	4,026	*
A	1	41,344	41,344	185,815	4,494	8,531	*
B	3	446,445	148,815	668,831	3,239	5,292	*
PxK	3	2,641	0,880	3,957	3,239	5,292	*
Error	16	3,560	0,222				
Total	23	493,990					

d. Uji Lanjut BNT

- Uji Lanjut BNT akibat Faktor A

Varietas Buah Naga	Data	Urutan	t_{α}	sd	BNT	Notasi
Buah Naga Putih (A1)	7,29	7,29	2,12	0,19	0,4082	a
Buah Naga Merah (A2)	9,92	9,92				b

- Uji Lanjut BNT akibat Faktor B

Lama Fermentasi	Data	Urutan	$t\alpha$	sd	BNT	Notasi
7 Hari	2,92	2,92				a
14 Hari	7,20	7,20	2,12	0,27	0,58	b
21 Hari	9,42	9,42				c
28 Hari	14,88	14,88				d

e. Uji DMRT

Perlakuan	Rerata	Urutan
A1B1	2,07	2,07
A1B2	5,43	3,77
A1B3	8,20	5,43
A1B4	13,47	8,20
A2B1	3,77	8,97
A2B2	8,97	10,63
A2B3	10,63	13,47
A2B4	16,30	16,30

SD = 0,2723

P	2	3	4	5	6	7	8
Nilai Jarak R(8,16,0,05)	2,998	3,144	3,235	3,297	3,343	3,376	3,402
RP	0,816462	0,856223	0,881006	0,89789	0,910418	0,919405	0,9265

	2,07	3,77	5,43	8,20	8,97	10,63	13,47	16,30	RP
2,07	0,000	1,700	3,367	6,133	6,900	8,567	11,400	14,233	0,816
3,77		0,000	1,667	4,433	5,200	6,867	9,700	12,533	0,856
5,43			0,000	2,767	3,533	5,200	8,033	10,867	0,881
8,20				0,000	0,767	2,433	5,267	8,100	0,898
8,97					0,000	1,667	4,500	7,333	0,910
10,63						0,000	2,833	5,667	0,919
13,47							0,000	2,833	0,926
16,30								0,000	
	a	b	c	d	de	f	g	h	

Lampiran 11. Data dan Analisa Antibakteri *Staphylococcus aureus* Cuka Buah Naga

a. Data Antibakteri *Staphylococcus aureus* Cuka Buah Naga

Perlakuan	Ulangan			Total Perlakuan (P)	Rerata	STD
	I	II	III			
A1B1	0,9	0,8	1,8	3,50	1,17	0,55076
A1B2	4,1	4,6	5,6	14,30	4,77	0,76376
A1B3	6,1	6,5	7,5	20,10	6,70	0,72111
A1B4	11,1	11,8	11,2	34,10	11,37	0,37859
A2B1	1,8	1,4	1,9	5,10	1,70	0,26458
A2B2	7,7	7,4	6,8	21,90	7,30	0,45826
A2B3	9,9	9,2	9,1	28,20	9,40	0,43589
A2B4	15,5	14,9	15,9	46,30	15,43	0,50332
Total Ulangan (R)	57,10	56,60	59,80			
Jumlah (S)				173,50		
Rerata Umum					8,30	

b. Tabel dua arah

Perlakuan	B1	B2	B3	B4	Total A	Rata - Rata
A1	3,50	14,30	20,10	34,10	72,00	6,000
A2	5,10	21,90	28,20	46,30	101,50	8,458
Total B	8,60	36,20	48,30	80,40		
Rata-rata	1,43333	6,03333	8,05	13,4		
FK	1254,3					

c. Analisa Keragaman

Sumber Variasi	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel		Notasi
					5%	1%	
Perlakuan	7	488,443	69,778	245,552	2,657	4,026	*
A	1	36,260	36,260	127,603	4,494	8,531	*
B	3	442,648	147,549	519,235	3,239	5,292	*
PxK	3	9,535	3,178	11,184	3,239	5,292	*
Error	16	4,547	0,284				
Total	23	492,990					

d. Uji Lanjut BNT

- Uji Lanjut BNT akibat Faktor A

Varietas Buah Naga	Data	Urutan	$t\alpha$	sd	BNT	Notasi
Buah Naga Putih (A1)	6,00	6,00	2,12	0,22	0,4613	a
Buah Naga Merah (A2)	8,46	8,46				b

- Uji Lanjut BNT akibat Faktor B

Lama Fermentasi	Data	Urutan	$t\alpha$	sd	BNT	Notasi
7 Hari	1,43	1,43				a
14 Hari	6,03	6,03	2,12	0,31	0,65	b
21 Hari	8,05	8,05				c
28 Hari	13,4	13,40				d

e. Uji DMRT

Perlakuan	Rerata	Urutan
A1B1	1,17	1,17
A1B2	4,77	1,70
A1B3	6,70	4,77
A1B4	11,37	7,30
A2B1	1,70	6,70
A2B2	7,30	9,40
A2B3	9,40	11,37
A2B4	15,43	15,43

SD = 0,3078

P	2	3	4	5	6	7	8
Nilai Jarak R(8,16,0,05)	2,998	3,144	3,235	3,297	3,343	3,376	3,402
RP	0,922694	0,967628	0,995635	1,014717	1,028874	1,039031	1,0470

	1,17	1,70	4,77	7,30	6,70	9,40	11,37	15,43	RP
1,17	0,000	0,533	3,600	6,133	5,533	8,233	10,200	14,267	0,923
1,70		0,000	3,067	5,600	5,000	7,700	9,667	13,733	0,968
4,77			0,000	2,533	1,933	4,633	6,600	10,667	0,996
7,30				0,000	0,600	2,100	4,067	8,133	1,015
6,70					0,000	2,700	4,667	8,733	1,029
9,40						0,000	1,967	6,033	1,039
11,37							0,000	4,067	1,047
15,43								0,000	
	a	ab	c	D	de	f	g	h	

Lampiran 12. Analisa Perlakuan Terbaik

Parameter	A1				A2			
	B1	B2	B3	B4	B1	B2	B3	B4
pH	3,680	3,500	3,240	3,160	3,820	3,330	3,160	2,980
Total Asam	0,740	1,560	2,340	2,770	0,810	1,810	2,710	3,080
TPT	2,070	1,870	1,600	1,130	2,200	2,070	2,000	1,800
Total Gula	0,230	0,220	0,210	0,150	0,410	0,350	0,290	0,220
Total Fenol	186,420	181,230	173,540	174,440	222,500	218,430	207,800	198,800
Antibakteri S.aureus	2,070	5,430	8,200	13,470	3,770	8,970	10,630	16,300
Antibakteri E.coli	1,170	4,770	6,700	11,370	1,700	7,300	9,400	15,430
Alkohol	4,000	2,670	1,000	0,000	5,670	4,670	2,000	0,000
DK pH	0,810	0,851	0,920	0,943	0,780	0,895	0,943	1,000
DK Total Asam	0,240	0,506	0,760	0,899	0,263	0,588	0,880	1,000
DK TPT	0,546	0,604	0,706	1,000	0,514	0,546	0,565	0,628
DK Total Gula	0,652	0,682	0,714	1,000	0,366	0,429	0,517	0,682
DK Total Fenol	0,838	0,815	0,780	0,784	1,000	0,982	0,934	0,893
DK Antibakteri S.aureus	0,127	0,333	0,503	0,826	0,231	0,550	0,652	1,000
DK Antibakteri E.coli	0,076	0,309	0,434	0,737	0,110	0,473	0,609	1,000
DK Alkohol	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
1-DK pH	0,190	0,149	0,080	0,057	0,220	0,105	0,057	0,000
1-DK Total Asam	0,760	0,494	0,240	0,101	0,737	0,412	0,120	0,000
1-DK TPT	0,454	0,396	0,294	0,000	0,486	0,454	0,435	0,372
1-DK Total Gula	0,348	0,318	0,286	0,000	0,634	0,571	0,483	0,318
1-DK Total Fenol	0,162	0,185	0,220	0,216	0,000	0,018	0,066	0,107
1-DK Antibakteri S.aureus	0,873	0,667	0,497	0,174	0,769	0,450	0,348	0,000
1-DK Antibakteri E.coli	0,924	0,691	0,566	0,263	0,890	0,527	0,391	0,000
1-DK Alkohol	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
(1-DK) ² pH	0,036	0,022	0,006	0,003	0,048	0,011	0,003	0,000
(1-DK) ² Total Asam	0,577	0,244	0,058	0,010	0,543	0,170	0,014	0,000
(1-DK) ² TPT	0,206	0,157	0,086	0,000	0,237	0,206	0,189	0,139
(1-DK) ² Total Gula	0,121	0,101	0,082	0,000	0,402	0,327	0,233	0,101
(1-DK) ² Total Fenol	0,026	0,034	0,048	0,047	0,000	0,000	0,004	0,011
(1-DK) ² Antibakteri	0,762	0,445	0,247	0,030	0,591	0,202	0,121	0,000

S.aureus								
(1-DK)^2								
Antibakteri								
E.coli	0,854	0,477	0,320	0,069	0,792	0,278	0,153	0,000
(1-DK)^2								
Alkohol	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
DK*Lamda pH	0,202	0,213	0,230	0,236	0,195	0,224	0,236	0,250
DK*Lamda								
Total Asam	0,060	0,127	0,190	0,225	0,066	0,147	0,220	0,250
DK*Lamda								
TPT	0,136	0,151	0,177	0,250	0,128	0,136	0,141	0,157
DK*Lamda								
Total Gula	0,163	0,170	0,179	0,250	0,091	0,107	0,129	0,170
DK*Lamda								
Total Fenol	0,209	0,204	0,195	0,196	0,250	0,245	0,233	0,223
DK*Lamda								
Antibakteri								
S.aureus	0,032	0,083	0,126	0,207	0,058	0,138	0,163	0,250
DK*Lamda								
Antibakteri								
E.coli	0,019	0,077	0,109	0,184	0,028	0,118	0,152	0,250
DK*Lamda								
Alkohol	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
lamda^2*((1-DK)^2) pH	0,002	0,001	0,000	0,000	0,003	0,001	0,000	0,000
lamda^2*((1-DK)^2) Total								
Asam	0,036	0,015	0,004	0,001	0,034	0,011	0,001	0,000
lamda^2*((1-DK)^2) TPT	0,013	0,010	0,005	0,000	0,015	0,013	0,012	0,009
lamda^2*((1-DK)^2) Total								
Gula	0,008	0,006	0,005	0,000	0,025	0,020	0,015	0,006
lamda^2*((1-DK)^2) Total								
Fenol	0,002	0,002	0,003	0,003	0,000	0,000	0,000	0,001
lamda^2*((1-DK)^2)								
Antibakteri								
S.aureus	0,048	0,028	0,015	0,002	0,037	0,013	0,008	0,000
lamda^2*((1-DK)^2)								
Antibakteri								
E.coli	0,053	0,030	0,020	0,004	0,049	0,017	0,010	0,000
lamda^2*((1-DK)^2) Alkohol	0,063	0,063	0,063	0,063	0,063	0,063	0,063	0,063
lamda*(1-DK)								
pH	0,048	0,037	0,020	0,014	0,055	0,026	0,014	0,000
lamda*(1-DK)								
Total Asam	0,190	0,123	0,060	0,025	0,184	0,103	0,030	0,000
lamda*(1-DK)								
TPT	0,114	0,099	0,073	0,000	0,122	0,114	0,109	0,093
lamda*(1-DK)								
Total Gula	0,087	0,080	0,071	0,000	0,159	0,143	0,121	0,080
lamda*(1-DK)								
Total Fenol	0,041	0,046	0,055	0,054	0,000	0,005	0,017	0,027
lamda*(1-DK)	0,218	0,167	0,124	0,043	0,192	0,112	0,087	0,000

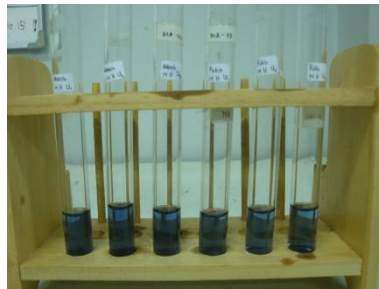
Antibakteri S.aureus lamda*(1-DK)								
Antibakteri E.coli lamda*(1-DK)	0,231	0,173	0,141	0,066	0,222	0,132	0,098	0,000
Alkohol	0,250	0,250	0,250	0,250	0,250	0,250	0,250	0,250

	A1				A2			
	B1	B2	B3	B4	B1	B2	B3	B4
L1	0,178	-0,025	-0,204	-0,547	0,184	-0,116	-0,275	-0,551
L2	0,224	0,155	0,115	0,072	0,226	0,137	0,107	0,078
Lmaksimal	1,178	0,975	0,796	0,453	1,184	0,884	0,725	0,449
Total	1,580	1,105	0,707	-0,020	1,594	0,906	0,557	-0,023

Lampiran 13. Dokumentasi



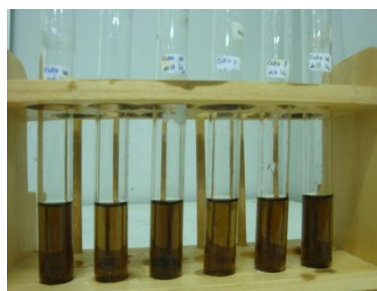
Analisa Total Asam



Analisa Total Fenol



Analisa pH



Analisa Total Gula



Analisa Antibakteri



Zona Bening antibakteri
S.aureus cuka 28 hari



Zona Bening antibakteri
E.coli cuka 28 hari